

**POTENSI BAKTERI PADA SERASAH TANAMAN PINUS
DI UB *FOREST* SEBAGAI BIOREMEDIATOR BAGI
TANAMAN JAGUNG TERCEMAR HERBISIDA GLIFOSAT**

Oleh:

CUKUP HARIADI



**UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FAKULTAS PERTANIAN
MALANG
2018**

**POTENSI BAKTERI PADA SERASAH TANAMAN PINUS
DI UB *FOREST* SEBAGAI BIOREMEDIATOR BAGI
TANAMAN JAGUNG TERCEMAR HERBISIDA GLIFOSAT**

**OLEH
CUKUP HARIADI
145040201111221**

**PROGRAM STUDI AGROEKOTEKNOLOGI
MINAT PERLINDUNGAN TANAMAN**

SKRIPSI

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh
Gelar Sarjana Pertanian Strata Satu (S-1)**

**UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FAKULTAS PERTANIAN
JURUSAN HAMA DAN PENYAKIT TUMBUHAN
MALANG
2018**

PERNYATAAN

Saya menyatakan bahwa segala pernyataan dalam skripsi ini merupakan hasil penelitian saya sendiri, dengan bimbingan komisi pembimbing. Skripsi ini tidak pernah diajukan untuk memperoleh gelar perguruan tinggi manapun dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan orang lain, kecuali yang dengan jelas ditunjukkan rujukannya dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Malang, Juli 2018

Cukup Hariadi



LEMBAR PERSETUJUAN

Judul Penelitian : Potensi Bakteri pada Serasah Tanaman Pinus di UB
Forest sebagai Bioremediator bagi Tanaman Jagung
Tercemar Herbisida Glifosat

Nama Mahasiswa : Cukup Hariadi

NIM : 145040201111221

Jurusan : Hama dan Penyakit Tumbuhan

Program Studi : Agroekoteknologi

Disetujui Oleh:

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,

Lugman Qurata Aini, SP., M.Si., Ph.D.
NIP. 19720919 199802 1 001

Restu Rizkyta Kusuma, SP., M.Sc.
NIK. 201409 880504 2 001

Diketahui,
Ketua Jurusan Hama dan penyakit Tumbuhan

Dr. Ir. Ludji Pantja Astuti, MS.
NIP. 19551018 198601 2 001

Tanggal Persetujuan :

LEMBAR PENGESAHAN

Mengesahkan

MAJELIS PENGUJI

Penguji I

Penguji II

Dr. Ir. Toto Himawan, SU.
NIP. 19551119 198303 1 002

Restu Rizkyta Kusuma, SP., M.Sc.
NIK. 201409 880504 2 001


Penguji III

Penguji IV

Luqman Qurata Aini, SP., M.Si., Ph.D.
NIP. 19720919 199802 1 001

Dr. Ir. Aminudin Afandhi, MS.
NIP. 19580208 198212 1 001

Tanggal Lulus :



**JADILAH SEPERTI SEBUAH EMAS
DI TEMPAT YANG BIASA,
DARIPADA MENJADI ORANG BIASA
DI TEMPAT YANG EMAS**

RINGKASAN

Cukup Hariadi. 145040201111221. Potensi Bakteri pada Serasah Tanaman Pinus di UB *Forest* sebagai Bioremediator bagi Tanaman Jagung Tercemar Herbisida Glifosat. Dibawah bimbingan Luqman Qurata Aini, SP., M.Si., Ph.D. sebagai Dosen Pembimbing Utama dan Restu Rizkyta Kusuma, SP., M.Sc sebagai Dosen Pembimbing Pendamping.

Herbisida adalah pestisida yang sering digunakan petani untuk mengendalikan gulma. Namun, penggunaan herbisida glifosat yang berlebih dapat menyebabkan penumpukan residu dan pada akhirnya akan berakibat bagi terjadinya degradasi lahan. Salah satu cara untuk menanggulangi kerugian petani akibat degradasi lahan yang disebabkan herbisida glifosat dapat dilakukan dengan bioremediasi. Tanaman pinus yang terdapat di UB *Forest* menyumbangkan serasah yang sangat melimpah namun kurang dimanfaatkan. Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji potensi bakteri dari serasah tanaman pinus sebagai bioremediator lahan tercemar herbisida glifosat.

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Penyakit Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya dan *Green House* Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya selama 5 bulan dari bulan Februari 2018 - Juni 2018. Tahapan penelitian yaitu pengambilan serasah tanaman pinus, eksplorasi dan isolasi bakteri, seleksi bakteri secara *in vitro*, uji efektivitas bakteri pendegradasi herbisida terhadap tanaman jagung secara *in vivo*, dan identifikasi bakteri terseleksi.

Hasil eksplorasi bakteri dari serasah tanaman pinus didapatkan 48 isolat bakteri. Pada tahap seleksi 19 isolat bakteri mampu hidup pada medium mengandung herbisida glifosat dan hasil uji hipersensitif pada tanaman tembakau menunjukkan bahwa 10 isolat bakteri tidak bersifat patogen. Identifikasi bakteri diketahui bahwa isolat P8A, P8B dan P8E yaitu *Pantoea* sp., isolat P8C, P8E, P8F, P8K, P9G yaitu *Erwinia* sp. dan isolat P8O yaitu *Pseudomonas* sp. Hasil dari semua variabel pertumbuhan yang diamati meliputi tinggi tanaman, panjang akar, berat basah dan berat kering perlakuan dengan menggunakan isolat bakteri P8O menunjukkan hasil yang berbeda nyata dibandingkan dengan perlakuan menggunakan isolat bakteri lainnya dan kontrol herbisida glifosat.

SUMMARY

Cukup Hariadi. 145040201111221. The Potential Bacteria on Litter of Pine in UB Forest as Bioremediator for Corn Plant Polluted a Herbicide Glifosat. Supervised by Luqman Qurata Aini, SP., M.Si., Ph.D. as Main Supervisor and Restu Rizkyta Kusuma, SP., M.Sc as Companion Supervisor.

A herbicide is pesticides that were often used to control weeds farmers. However, the use of a herbicide glifosat who waste by movements are thought to cause the accumulation of a residue and finally impact of land degradation The solution to resolve the problem of farmers loss income caused by the decreased of land productivity because the use of glifosat herbicide is to do bioremediation. Pine tree at UB forest give so many litters without being used. The purpose of this research is to study the benefit of isolate from pine's litters as bioremediator for land that polluted by glifosat herbicide.

The research was conducted at Laboratory of disease in Pest and Disease of Plant, Faculty of Agriculture, University of Brawijaya and Faculty of Agriculture's Green House University of Brawijaya for 5 months from February 2018 until June 2018. The steps of this research are: Collecting pine litters at UB Forest, exploration and isolate the bacteria, bacteria selection at in vitro condition, effectiveness test for degradate herbicide to the growth of corn plant at in vivo condition and identified the selected bacteria.

The result of bacteria exploration from pine litters get 48 bacteria isolates. In the selection of 19 isolates bacteria, the isolates can life in the medium which contain glifosat herbicide and the results of hypersensitive that test in tobacco plants shows that 10 isolates bacteria among them are not pathogen. Based on bacteria identification, the isolates known as P8A, P8B, P8E is *Pantoea* sp. The isolates in P8C, P8E, P8F, P8K, P9G is *Erwinia* sp. and the isolate P8O is *Pseudomonas* sp. The observation result of plant growth variable which is higher plants , long roots , a heavy wetness and heavy dry treatment shows that the isolate P8O has significant result compared to the others isolates variable and glifosat herbicide control.

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT, atas limpahan rahmat dan hidayahNya, sehingga laporan penelitian yang berjudul “Potensi Bakteri pada Serasah Tanaman Pinus di UB *Forest* sebagai Bioremediator bagi Tanaman Jagung Tercemar Herbisida Glifosat”. Disusun dalam rangka memenuhi kewajiban Program Studi Agroekoteknologi Universitas Brawijaya untuk menyelesaikan program studi (S1).

Pada kesempatan ini penulis menyampaikan terima kasih kepada Bapak Luqman Qurata Aini, SP., M.Si., Ph.D. dan Ibu Restu Rizkyta Kusuma SP., M.Sc selaku dosen pembimbing yang selalu sabar memberikan wawasan, dukungan, motivasi dan kesabarannya dalam membimbing penulis.

Penghargaan yang tulus penulis berikan kepada orang tua, kakek, nenek, dan teman-teman atas doa dan dukungannya. Semoga kegiatan penelitian yang telah dilaksanakan dapat menghasilkan manfaat bagi banyak pihak dan memberikan sumbangsih dalam kemajuan ilmu pengetahuan.

Malang, Juli 2018

Penulis

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Mojokerto pada tanggal 5 Maret 1996 sebagai anak keempat dari empat bersaudara dari Alm. Bapak Supardi dan Alm. Ibu Karmijah. Penulis menempuh pendidikan di SDN Gunung Gedangan II Kota Mojokerto pada tahun 2002 dan lulus pada tahun 2008. Penulis selanjutnya menempuh pendidikan di SMPN I Kota Mojokerto dan lulus pada tahun 2011, ditahun yang sama penulis melanjutkan pendidikan di SMAN II Kota Mojokerto dan lulus pada tahun 2014. Penulis melanjutkan pendidikan tinggi di Universitas Brawijaya dengan mengambil program studi Agroekoteknologi melalui jalur Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri.

Selama menjadi mahasiswa, penulis pernah menjadi asisten Biokimia Tanaman (2015), Fisiologi Tanaman (2016), Manajemen Agroekosistem (2016), Manajemen Hama Penyakit Terpadu (2017), dan Pertanian Berlanjut (2017). Penulis memiliki pengalaman berorganisasi dengan mengikuti unit kegiatan mahasiswa yaitu Badan Eksekutif Mahasiswa Fakultas Pertanian sebagai staf Kementerian Komunikasi dan Informasi (2015) dan Himpunan Mahasiswa Perlindungan Tanaman sebagai staf Departemen Informasi dan Komunikasi (2017). Penulis juga pernah mengikuti kepanitiaan baik tingkat fakultas ataupun universitas diantaranya Sinau Informasi dan Teknologi (2015), Kampung Budaya IV (2016), *Plant Protection Olympiad* (2017), PROTEKSI HIMAPTA (2017), dan ARTHROPODA (2017). Penulis juga pernah meraih juara 2 *Speech Olimpiade Dekan Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya* (2017).

DAFTAR ISI

	Halaman
RINGKASAN	i
SUMMARY	ii
KATA PENGANTAR.....	iii
RIWAYAT HIDUP	iv
DAFTAR ISI.....	v
DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR GAMBAR.....	viii
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Hipotesis Penelitian.....	3
1.5 Manfaat Penelitian.....	3
II. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Biodegradasi	4
2.2 Bioremediasi.....	4
2.3 Herbisida Glifosat.....	7
2.4 Bakteri yang Berpotensi sebagai Agens Bioremediasi.....	12
2.5 UB <i>Forest</i>	14
III. METODE PENELITIAN	15
3.1 Kerangka Operasional Penelitian	15
3.2 Tempat dan Waktu	16
3.3 Alat dan Bahan	16
3.4 Tahapan Penelitian	16

3.5 Analisis Data	23
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	24
4.1 Isolasi Bakteri dari Serasah Tanaman Pinus	24
4.2 Seleksi Bakteri pada Medium Mengandung Herbisida Glifosat secara <i>In Vitro</i>	25
4.3 Uji Hipersensitif pada Tembakau.....	26
4.4 Karakterisasi Bakteri Serasah Tanaman Pinus	27
4.4.1 Karakterisasi Morfologi Koloni.....	27
4.4.2 Karakterisasi Bakteri secara Fisiologi Dan Biokimia.....	28
4.4.3 Identifikasi Bakteri Terseleksi.....	34
4.5 Uji Efektivitas Bakteri Pendegradasi Herbisida Terhadap Tanaman Jagung secara <i>In Vivo</i>	35
4.6 Pembahasan Umum.....	40
V. PENUTUP	42
5.1 Kesimpulan.....	42
5.2 Saran.....	42
DAFTAR PUSTAKA	43
LAMPIRAN.....	48

DAFTAR TABEL

Nomor	Teks	Halaman
1.	Hasil seleksi bakteri pada medium mengandung herbisida glifosat secara <i>in vitro</i>	25
2.	Karakteristik morfologi koloni bakteri terseleksi	28
3.	Karakterisasi uji fisiologi dan biokimia pada bakteri terseleksi	29
4.	Rerata tinggi tanaman jagung.....	36
5.	Rerata panjang akar tanaman jagung	37
6.	Rerata berat basah dan berat kering tanaman jagung.....	39

Lampiran

1.	Analisis ragam tinggi tanaman jagung pada pengamatan 3 hst	49
2.	Analisis ragam tinggi tanaman jagung pada pengamatan 6 hst	49
3.	Analisis ragam tinggi tanaman jagung pada pengamatan 9 hst	49
4.	Analisis ragam tinggi tanaman jagung pada pengamatan 12 hst	49
5.	Analisis ragam tinggi tanaman jagung pada pengamatan 15 hst	49
6.	Analisis ragam panjang akar tanaman jagung.....	50
7.	Analisis ragam berat basah tanaman jagung	50
8.	Analisis ragam berat kering tanaman jagung	50
9.	Deskripsi tanaman jagung varietas BISI-18.....	60

DAFTAR GAMBAR

Nomor	Teks	Halaman
1.	Jalur metabolisme herbisida glifosat oleh enzim bakteri	11
2.	Diagram alir kerangka operasional penelitian.....	15
3.	Diagram pengujian bakteri hingga tingkat genus	21
4.	Hasil pengenceran setelah 48 jam menggunakan media <i>nutrient agar</i>	24
5.	Hasil uji hipersensitif pada tanaman tembakau pada 2 hsi	26
6.	Bentuk koloni bakteri	27
7.	Hasil uji KOH	30
8.	Hasil sel bakteri Gram negatif pada perbesaran 100x.....	30
9.	Hasil uji OF.....	31
10.	Hasil Uji pigmen fluorescent	32
11.	Hasil uji pertumbuhan pada media selektif YDC	33
12.	Hasil uji katalase	33
Lampiran		
1.	Uji kemampuan hidup bakteri pada media mengandung herbisida glifosat.	51
2.	Hasil uji hipersensitif yang tidak menunjukkan gejala nekrosis	52
3.	Hasil uji hipersensitif yang menunjukkan gejala nekrosis pada 2 HST	53
4.	Bakteri yang terseleksi pada medium NA.....	53
5.	Bentuk koloni bakteri	54
6.	Hasil uji KOH 3%	55
7.	Hasil uji katalase	55
8.	Hasil uji gram pada perbesaran 100x	56
9.	Hasil uji OF	57
10.	Hasil uji YDC bakteri yang memiliki koloni berwarna kuning	58
11.	Hasil uji YDC bakteri yang memiliki koloni berwarna putih	58
12.	Tinggi tanaman jagung pada 15 hst	59





I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Herbisida merupakan pestisida untuk mengendalikan gulma yang menduduki angka paling tinggi dalam aplikasi pada lahan pertanian yaitu mencapai angka 40%, diikuti insektisida 17% dan fungisida 10% (Pariona, 2017). Herbisida yang diaplikasikan baik aplikasi pratumuh maupun pascatumuh akan tertinggal dalam tanah, atau sering disebut sebagai residu herbisida (Moomaw *et al.*, 1996). Salah satu jenis herbisida yang banyak digunakan untuk mengendalikan gulma adalah herbisida glifosat. Herbisida glifosat termasuk dalam herbisida golongan organofosfat (Wardoyo, 2001). Herbisida glifosat efektif untuk menekan pertumbuhan gulma karena memiliki enzim yang dapat menghambat jalur biosintesis asam amino yang penting dalam pembentukan protein. Namun, penggunaan herbisida glifosat yang berlebih dapat menyebabkan penumpukan residu dan pada akhirnya akan berakibat bagi terjadinya degradasi lahan. Ketika degradasi lahan terjadi maka akan terjadi penurunan angka biodiversitas serta nilai produktivitas lahan, sehingga pada akhirnya lahan tidak dapat lagi digunakan dan petani merugi (Djojsumarto, 2006).

Salah satu cara untuk menanggulangi kerugian petani akibat degradasi lahan yang disebabkan oleh herbisida glifosat dapat dilakukan dengan bioremediasi. Bioremediasi merupakan suatu teknologi yang digunakan untuk memperbaiki lahan tercemar yang terdegradasi akibat penggunaan bahan sintesis terutama pestisida melalui aktivitas dari mikroba tanah dengan enzim yang dihasilkan oleh mikroba termasuk bakteri (Santoso, 2008). Efektivitas penggunaan bakteri untuk bioremediasi dinilai dapat menekan senyawa beracun pada lahan terutama lahan jagung yang terdegradasi, bahwa mekanisme kerja bakteri pada proses bioremediasi yakni dengan merubah struktur kimia polutan yang semula kompleks menjadi tidak kompleks sehingga menghasilkan metabolit yang tidak berbahaya dan tidak beracun (Lumbanraja, 2014).

Hasil penelitian Dewi (2017), menyebutkan bahwa salah satu diantara bakteri yang ditemukan pada rizosfer pinus yaitu bakteri *Bacillus thuringiensis* dan *Erwinia* sp. yang bermanfaat untuk menghasilkan IAA dan melarutkan fosfat,

sehingga dapat digunakan untuk menjadi agens bioremediator. Serasah tanaman pinus dapat menjadi tempat hidup bagi bakteri dan jamur yang bermanfaat. Serasah tanaman pinus berpotensi menjadi sumber biodiversitas bakteri untuk kegiatan bioremediasi (Rao, 1994). UB *Forest* merupakan hutan pendidikan Universitas Brawijaya yang memiliki luas 554 hektar, lokasinya berada di kawasan lereng Gunung Arjuno, Dusun Sumbersari, Desa Tawang Argo, Kecamatan Karangploso, Kabupaten Malang. UB *Forest* termasuk kedalam hutan produksi, dikarenakan penggunaan lahan untuk ditanami tanaman diantaranya kopi, pinus dan tanaman hortikultura. Tanaman pinus yang terdapat di UB *Forest* menyumbangkan serasah yang sangat melimpah namun kurang dimanfaatkan (BUA UB, 2017).

Metode yang dapat digunakan dalam kegiatan bioremediasi yakni dengan menggunakan tanaman indikator. Tanaman indikator digunakan sebagai variabel pengamatan yang diamati dalam jangka waktu tertentu. Tanaman indikator yang biasanya digunakan dalam kegiatan bioremediasi yaitu padi, caisim dan kedelai (Sriyani, 2004). Tanaman jagung merupakan tanaman yang dapat tumbuh cepat serta memiliki akar yang serabut sehingga dimanfaatkan sebagai inang bagi bakteri untuk dapat bersimbiosis pada bagian perakaran, yang berpotensi digunakan sebagai tanaman indikator dalam kegiatan bioremediasi (Hardjowigeno, 2010).

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dari penelitian ini sebagai berikut:

1. Apakah terdapat bakteri pada serasah tanaman pinus di UB *Forest* yang berpotensi sebagai agens bioremediator pada lahan tercemar herbisida glifosat?
2. Bagaimana karakteristik bakteri pada serasah tanaman pinus di UB *Forest* yang mampu menjadi agens bioremediator pada lahan tercemar herbisida glifosat?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini sebagai berikut

1. Mengetahui bakteri pada serasah tanaman pinus di UB *Forest* yang berpotensi sebagai agens bioremediator pada lahan tercemar herbisida glifosat.
2. Mengetahui karakteristik bakteri pada serasah tanaman pinus di UB *Forest* yang mampu menjadi agens bioremediator pada lahan tercemar herbisida glifosat.

1.4 Hipotesis Penelitian

Hipotesis yang diajukan dari penelitian ini adalah pada serasah tanaman pinus ditemukan bakteri yang berpotensi sebagai bioremediator pada lahan tercemar herbisida glifosat.

1.5 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah memberikan pengkayaan informasi tentang bakteri serasah tanaman pinus di UB *Forest* yang berpotensi digunakan untuk bioremediasi.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Biodegradasi

Biodegradasi yaitu pengaplikasian dari teknologi bioremediasi untuk pemecahan bahan organik yang telah tercemar dengan memanfaatkan aktivitas mikroba yang melibatkan serangkaian reaksi enzimatik. Proses biodegradasi umumnya terjadi karena senyawa tersebut dimanfaatkan sebagai substrat. Biodegradasi yang telah mengalami proses yang lengkap disebut juga sebagai mineralisasi dengan produk akhirnya yaitu karbondioksida dan air (Banuwa, 2013).

2.2 Bioremediasi

2.2.1 Pengertian Bioremediasi

Bioremediasi merupakan suatu teknologi yang digunakan untuk memperbaiki lahan tercemar yang terdegradasi akibat penggunaan bahan sintesis terutama pestisida melalui aktivitas dari mikroba tanah dengan enzim yang dihasilkan oleh mikroba (Santoso, 2008). Teknologi bioremediasi juga merupakan teknologi yang ramah lingkungan dan juga lebih ekonomis untuk diaplikasikan sebagai upaya perbaikan lahan (Aliyanta *et al*, 2011).

2.2.2 Mekanisme Kerja Bioremediasi

Mekanisme kerja dalam proses bioremediasi yaitu mikroba yang digunakan akan memproduksi enzim-enzim yang akan memodifikasi polutan senyawa beracun dengan cara merubah struktur kimia polutan yang kompleks menjadi tidak kompleks sehingga menjadi metabolit yang tidak berbahaya dan juga tidak beracun. Senyawa-senyawa polutan yang menjadi faktor pencemaran lingkungan seperti logam berat, petroleum hidrokarbon, dan senyawa organik yang terhalogenasi seperti insektisida, herbisida, dan lainnya. Dalam proses bioremediasi, mikroba menggunakan senyawa kimia tersebut untuk pertumbuhan dan reproduksinya melalui berbagai proses oksidasi. Enzim yang dihasilkan juga berperan untuk mengkatalis reaksi degradasi, sehingga tidak membutuhkan waktu yang lama untuk mencapai keseimbangan. Lintasan biodegradasi berbagai

senyawa kimia yang berbahaya dapat diproses berdasarkan lintasan mekanisme dari beberapa senyawa kimia alami seperti hidrokarbon, lignin, selulosa, dan hemiselulosa (Lumbanraja, 2014).

2.2.3 Macam-macam Teknik Bioremediasi

Teknik bioremediasi dibagi menjadi lima kelompok yaitu bioremediasi *in situ*, bioremediasi *ex situ*, bioaugmentasi, bioremediasi surfactant-aided, dan fitoremediasi. Bioremediasi *in situ* merupakan rancangan yang menggunakan kemampuan mikroorganisme indogen untuk merombak polutan, kemudian bioremediasi *ex situ* merupakan pemindahan polutan pada suatu tempat dengan cara diberikan suatu perlakuan, selanjutnya bioaugmentasi merupakan perlakuan biologis dengan menggunakan mikroorganisme perombak pemulih lingkungan yang tercemar, dan bioremediasi *surfactant-aided* digunakan untuk mendegradasi polutan yang melekat pada partikel tanah (tanah, pasir, sedimen), serta fitoremediasi yaitu penggunaan tanaman atau pohon untuk memulihkan tanah yang telah tercemar (Gossalam, 1999).

2.2.4 Kriteria Keberhasilan Bioremediasi

Terdapat kriteria dalam keberhasilan proses bioremediasi antara lain adanya populasi mikroba yang mendegradasi polutan beracun, terdapatnya nutrisi yang dapat menjadi sumber energi bagi keberlangsungan hidup mikroorganisme tersebut selama berada didalam tanah serta kondisi yang mendukung seperti suhu, derajat kemasaman tanah, tingkat salinitas, konsentrasi polutan serta kehadiran inhibitor (Steven dan Marc, 1996).

2.2.5 Kelebihan dan Kekurangan Bioremediasi

Teknologi bioremediasi memiliki beberapa keunggulan dan kelemahan dalam pengelolaan keadaan yang terkontaminasi. Kelebihan bioremediasi yaitu dapat dilakukan di lokasi tercemar, permanen menghilangkan limbah, ramah lingkungan, tidak ada resiko jangka panjang, kerusakan pada lokasi rendah, dapat digabung dengan teknologi lainnya. Kekurangan bioremediasi yaitu tidak semua senyawa kimia dapat dibioremediasi, memerlukan monitoring yang ketat,

potensial menghasilkan produk sampingan yang belum diketahui (Cookson, 1995).

2.2.6 Faktor Pembatas Bioremediasi

Proses penguraian senyawa-senyawa pencemar oleh bakteri (mikroba) dipengaruhi oleh faktor-faktor seperti jumlah nutrisi, kecukupan oksigen, suhu, pH, dan lingkungan matrik tumbuh:

A. Nutrisi

Tumpahan minyak yang cukup besar terjadi di lingkungan, hal ini menyebabkan suplai karbon meningkat secara signifikan dan keberadaan nitrogen dan fosfor berada pada batas minimum untuk degradasi minyak. Biodegradasi *crude oil* meningkat tajam dengan penambahan paraffin yang dilapisi MgNH_4PO_4 (Cookson, 1995).

B. Oksigen

Proses biodegradasi yang terjadi pada senyawa hidrokarbon membutuhkan akseptor elektron seperti oksigen, nitrat, dan sulfat. Oksigen merupakan unsur yang sangat penting. Kekurangan oksigen menyebabkan degradasi menurun tajam. Degradasi akan terjadi pada laju tertinggi jika aerasi dimaksimalkan (Cookson, 1995).

C. pH

pH tanah umumnya stabil bersifat alkali. Kebanyakan bakteri dan jamur heterotrof menyukai pH netral, dengan jamur lebih toleran terhadap kondisi asam. Biodegradasi minyak dapat terhambat akibat penurunan pH secara drastis. Jangkauan pH yang baik untuk bakteri adalah 6,5–8,5 dan pH optimal untuk biodegradasi berkisar antara 6–8,5 (Cookson, 1995).

D. Suhu

Proses biologis umumnya meningkat seiring dengan meningkatnya suhu sampai suhu maksimal dimana terjadi denaturasi enzim yang akan menghambat dan mematikan sel. Biasanya, reaksi terhadap suhu oleh mikroorganisme ditunjukkan dengan pola asimetris yang jelas, dengan aktivitas maksimal pada

suhu tepat di bawah suhu letal. Mikroorganisme diklasifikasikan ke dalam golongan *psychrophiles* (suhu optimal antara 5 dan 15°C), *mesophiles* (suhu optimal antara 25 dan 40°C), atau *thermophiles* (suhu optimal antara 40 dan 60°C). Walaupun sebagian besar proyek bioremediasi dilaksanakan pada kondisi mesofil, kemampuan untuk mendegradasi kontaminan juga ditemukan pada mikroorganisme *psychrophiles* dan *thermophiles* (Cookson, 1995).

E. Kadar Air

Bakteri seperti sel yang bergantung pada suplai air yang cukup untuk dapat tumbuh dan bereproduksi. Kadar air yang baik untuk pertumbuhan bakteri adalah antara 50 – 80% dari *water holding capacity* (Cookson, 1995).

2.3 Herbisida Glifosat

2.3.1 Pengertian Herbisida Glifosat

Herbisida glifosat merupakan salah satu jenis herbisida yang memiliki bahan aktif dengan nama kimia N-fosfonometil glisina dengan rumus molekul $C_3H_8NO_5P$. Bahan ini merupakan bahan aktif dari herbisida golongan organofosfat yang diproduksi oleh Mosanto Co. USA tahun 1971 (Wardoyo, 2001).

2.3.2 Mekanisme Kerja Herbisida Glifosat

Mekanisme kerja dari bahan aktif yang terdapat pada glifosat ini yaitu enzim yang terdapat dalam bahan aktif glifosat akan menghambat jalur biosintesis asam amino yang penting dalam pembentukan protein (Djojsumarto, 2006). Pemberian herbisida berbahan aktif glifosat sangat dianjurkan dan terbukti efektif dalam mematikan gulma dalam kurun waktu yang singkat, namun apabila herbisida ini diaplikasikan dalam jangka kurun waktu yang sangat lama maka hal tersebut dapat merusak tanah dan memicu terjadinya erosi (Sakalena, 2009).

2.3.3 Herbisida Glifosat Setelah Masuk Ke Dalam Tanah

Ketika senyawa herbisida glifosat kontak dengan tanah, baik karena aplikasi, terjatuh, atau tertumpah, atau karena terbawa oleh air hujan dan irigasi, sebagian akan tertahan dan tertinggal di dalam tanah melalui proses absorpsi,

sebagian lagi akan berada di dalam air diantara partikel-partikel tanah. Bahan aktif glifosat relatif stabil pada suhu, tekanan serta pH yang normal, sehingga memungkinkan untuk tinggal lebih lama di dalam tanah. Namun, bahan aktif ini juga mudah larut dalam air sehingga memungkinkan untuk tercuci oleh air hujan atau air irigasi sehingga dapat mencemari lingkungan atau sistem perairan (Currann, 1998).

Absorpsi herbisida glifosat oleh permukaan padatan tanah diketahui sebagai proses penting yang mampu mempengaruhi herbisida di dalam tanah dan lingkungan. Absorpsi ini mampu menurunkan konsentrasi senyawa herbisida didalam larutan tanah sehingga menghalangi mobilitas senyawa tersebut menuju sistem perairan. Senyawa herbisida yang terabsorpsi bersifat pasif, tidak tersedia untuk proses fisik, kimia, maupun biologi. Absorpsi herbisida sangat dipengaruhi oleh luas permukaan absorben. Semakin luas permukaan absorben semakin tinggi kemungkinan terjadi absorpsi karena semakin banyak tempat yang tersedia untuk permukaan absorpsi (Hager dan Sprague, 2002).

Herbisida merupakan pestisida kationik dengan kelarutan di dalam air sangat tinggi. Bahan aktif yang terkandung dalam herbisida merupakan pestisida kationik (*divalent*), sehingga berpotensi mengalami pertukaran kation di dalam tanah. Ion glifosat dapat bereaksi dengan lebih dari satu ion COO^- koloid organik tanah. Glifosat akan bereaksi dan diikat oleh dua gugus reaktif koloid organik tanah, mungkin oleh ion COO^- , fenolat O^- , kombinasi keduanya, atau kombinasi salah satu ion tersebut dengan radikal bebas. Semakin tinggi kandungan bahan organik tanah, semakin tinggi kandungan gugus reaktif yang dimilikinya, semakin tinggi jumlah herbisida yang terabsorpsi. Peningkatan bahan organik tanah diikuti peningkatan bahan organik tanah terlarut sehingga menurunkan absorpsi herbisida oleh permukaan bahan organik tanah (Hager dan Sprague, 2002).

Adanya hubungan yang kompleks antara herbisida, tanah, iklim maupun organisme yang berada di dalam tanah merupakan penyebab terjadinya keragaman persistensi herbisida dalam tanah. Oleh karena itu agar penggunaannya sesuai dengan yang diharapkan dan efek negatifnya terhadap lingkungan dapat ditekan maka terdapat faktor-faktor yang mempengaruhi herbisida glifosat dalam tanah baik secara biotik atau abiotik yaitu:

A. Dekomposisi mikroorganisme dan bahan organik tanah

Dekomposisi (penguraian) herbisida dalam tanah dapat terjadi apabila herbisida itu telah lama berada dalam tanah sebelum terabsorpsi oleh akar gulma. Dekomposisi ini sangat tergantung pada jenis herbisidanya, ada yang sukar dan ada pula yang mudah terurai. Herbisida organik merupakan herbisida yang mudah terurai karena menyediakan sumber karbon bagi mikroorganisme tanah. Kandungan bahan organik tanah merupakan sumber makanan bagi mikroorganisme. Pada tanah yang memiliki kandungan bahan organik cukup tinggi maka populasi mikroorganisme akan meningkat sehingga proses dekomposisi pun akan meningkat. Proses dekomposisi oleh mikroorganisme tanah dipengaruhi oleh mineral nutrisi, suhu, pH, kandungan air dan oksigen dalam tanah. Apabila aerasi tidak berjalan normal, pada tanah yang kering dan dingin maka proses dekomposisi akan berjalan lambat (Rao, 2000).

B. Jumlah herbisida yang diabsorpsi koloid tanah

Herbisida berada dalam larutan tanah atau akan diabsorpsi (diserap) oleh koloid tanah. Komponen tanah yang paling utama dalam menentukan persistensi herbisida adalah kandungan liat tanah. Kandungan liat dengan tipe 2 :1 mempunyai kemampuan mengabsorpsi lebih besar dibandingkan 1 : 1. Artinya, pada tanah yang memiliki kandungan liat lebih banyak akan lebih mudah mengabsorpsi herbisida dibandingkan tanah yang memiliki kandungan pasir dan liat yang sama (Rao, 2000).

C. Penguapan

Penguapan merupakan proses hilangnya herbisida pada tanah. Sebenarnya yang dimaksud hilang disini adalah terjadi proses fisik dari cair menjadi gas atau yang disebut penguapan. Hilangnya herbisida yang menguap bersama bahan aktifnya secara langsung maupun tidak akan mengurangi daya fitotoksitasnya. Proses penguapan itu sendiri dipengaruhi oleh kelarutan herbisida dalam air, daya absorpsi tanah, kelembaban tanah, keasaman tanah dan suhu (Rao, 2000).

D. Pencucian

Pencucian merupakan suatu proses merembesnya herbisida ke tempat yang lebih dalam atau berpindahnya herbisida tersebut dari tempat semula. Proses pencucian ini tergantung pada kelarutan herbisida dalam air, jumlah air yang merembes ke lapisan bawah dan hubungannya dengan kemampuan absorpsi tanah (Rao, 2000).

E. Fotodekomposisi

Proses fotodekomposisi tidak jauh berbeda dengan dekomposisi mikroorganisme, hanya saja perbedaan yang mendasar adalah proses penguraian senyawa kimia herbisida tersebut menjadi senyawa lain disebabkan oleh cahaya matahari. Faktor-faktor yang mempercepat proses foto dekomposisi ini adalah suhu permukaan yang tinggi, kegiatan mikroorganisme, reaksi kimia yang terjadi dalam tanah dan absorpsi oleh tanah (Rao, 2000).

F. Vegetasi

Vegetasi merupakan kelompok tanaman/tumbuhan yang menutupi permukaan tanah. Dalam hal ini vegetasi tergantung dari tanaman yang dibudidayakan. Hubungan antara vegetasi dengan persistensi herbisida dapat digambarkan sebagai berikut ketersediaan herbisida bagi vegetasi tergantung pada jumlah herbisida dalam larutan tanah serta laju transportasi melalui aliran massa. Maka dalam proses ini air memegang peranan yang sangat penting Selain air, kerapatan, jenis vegetasi dan fase pertumbuhan juga menentukan bagaimana tanggapan vegetasi tersebut terhadap pestisida (Rao, 2000).

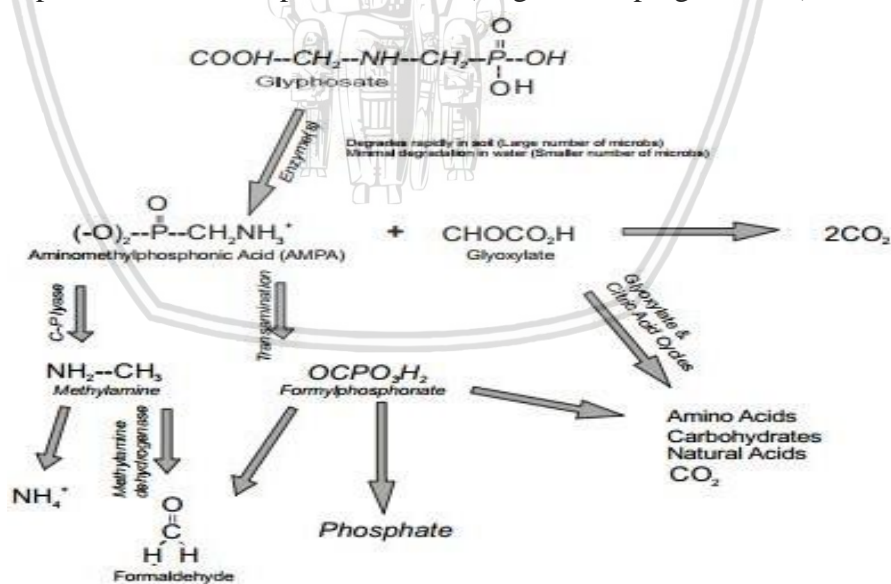
G. Jenis herbisida

Struktur molekul kimia dari suatu herbisida akan menentukan persistensinya dalam tanah. Dengan bahan aktif yang beragam tentu saja membuat herbisida yang ada di pasaran saat ini memiliki daya persistensi yang berlainan pula. Secara umum kelompok herbisida yang mempunyai perstensi paling rendah sampai nilai paling tinggi berturut-turut yaitu organofosfat, karbamat, asam alifatik, fenoksi, tolouidin, dan nitril. Berdasarkan hal tersebut maka penggunaan herbisida yang tepat sasaran, dan efektif serta selektif tetapi juga dalam jangka panjang hasil

aplikasi herbisida tersebut tidak menyebabkan pencemaran yang lebih besar lagi (Rao, 2000).

2.3.4 Metabolisme Herbisida Glifosat

Metabolisme perombakan senyawa glifosat oleh bakteri terjadi melalui pemutusan ikatan karbon dan fosfor pada senyawa tersebut. Pada metabolisme perombakan tersebut bakteri menghasilkan suatu senyawa metabolit. Sebelum senyawa metabolit dihasilkan terbentuk suatu senyawa berupa AMPA (Amino Metil Phosponic Acid) (Gambar 1). Degradasi AMPA umumnya lebih lambat dibandingkan dengan glifosat kemungkinan karena AMPA dapat menyerap ke partikel tanah lebih kuat dan/atau kurang memungkinkan untuk menembus dinding sel atau membran mikroorganisme tanah. Reaksi ini dikatalis oleh enzim phosphonatase. Metabolisme perombakan senyawa glifosat tersebut menghasilkan senyawa CO_2 , fosfonat dan sarkosin. Fosfonat digunakan bakteri sebagai sumber fosfor bagi kehidupannya sedangkan sarkosin digunakan bakteri sebagai sumber karbon dan menghasilkan produk AMPA. Produk CO_2 dapat digunakan sebagai bahan dapat proses fotosintesis pada tanaman (Hager dan Sprague, 2002).



Gambar 1. Jalur metabolisme herbisida glifosat oleh enzim bakteri pendegradasi (Weiping, 1995).

2.3.5 Degradasi Herbisida di Tanah

Laju degradasi herbisida dalam tanah dipengaruhi oleh faktor tanah, iklim, tumbuhan, serta sifat kimia herbisida. Sifat herbisida yang dicirikan dengan sifat kimia herbisida akan bervariasi dalam hal daya larut dalam air, adsorpsi tanah, tekanan uap, dan kepekaan degradasi secara kimia dan mikroba. Dosis herbisida juga merupakan hal yang menjadi faktor yang mempengaruhi laju degradasinya. Laju degradasi herbisida proporsional dengan dosis yang diberikan. Hal itu dapat dijelaskan bahwa semakin sedikit dosis herbisida yang diberikan akan semakin cepat terdekomposisi melalui cahaya atau semakin cepat terdegradasi oleh mikrobia (Riadi, 2011).

Laju degradasi herbisida dalam tanaman dapat juga dipengaruhi oleh kultivar tanaman pada suatu lahan. Seperti yang kita ketahui bahwa adanya kultivar tanaman yang memiliki sistem perakaran yang kompleks, daun yang baik, dan sistem percabangan yang banyak akan mempertinggi proses pengambilan atau adsorpsi hara, air, dan termasuk herbisida yang diaplikasi melalui tanah. Fenomena ini akan memperlihatkan bahwa kultivar tanaman yang berkanopi luas akan mengakibatkan semakin cepat laju degradasi herbisida di dalam tanah. Ketersediaan herbisida bergantung pada jumlah herbisida dalam larutan tanah serta laju transportasi herbisida melalui aliran massa dan difusi ke akar atau bagian lain (Riadi, 2011).

2.4 Bakteri yang Berpotensi sebagai Agens Bioremediasi

2.4.1 Bakteri *Pseudomonas* sp.

Bakteri *Pseudomonas* termasuk dalam golongan bakteri Gram negatif, tidak membentuk spora, berbentuk rod (batang), motil dengan satu atau lebih flagela pada bagian tepi. Jenis bakteri obligat aerob, tetapi beberapa spesies dapat tumbuh secara anaerob dalam kondisi lingkungan yang terdapat nitrat di dalamnya. Termasuk dalam bakteri katalase positif, yakni dengan memetabolisme gula secara oksidatif (Moore *et al.*, 2006). *Pseudomonas* secara umumnya memiliki enzim hidrolitik yang penting dalam mendegradasi polimer menjadi monomer namun bakteri ini memiliki sistem *inducible operon* yang mampu menghasilkan enzim tertentu dalam proses metabolisme sumber karbon yang tidak biasa

digunakan. Oleh karena itu, bakteri ini memiliki peran yang sangat penting dalam proses biodegradasi berbagai macam polimer antara lain senyawa xenobiotik dan pestisida. Salah satu jenis enzim yang dihasilkan oleh *Pseudomonas* sp. yang berperan dalam biodegradasi adalah serine hidrolase, esterase dan lipase (Shimao, 2001)

2.4.2 Bakteri *Acinetobacter* sp.

Bakteri *Acinetobacter* sp. memiliki bentuk seperti batang dengan diameter 0,9–1,6 μm dan panjang 1,5–2,5 μm . Bakteri *Acinetobacter* sp berbentuk bulat panjang pada fase stasioner pertumbuhannya. Bakteri ini tidak dapat membentuk spora. Tipe selnya adalah gram negatif, tetapi sulit untuk diwarnai. Bakteri ini bersifat aerobik, sangat memerlukan oksigen sebagai terminal elektron pada metabolisme. Semua tipe bakteri ini tumbuh pada suhu 20–30°C, dan tumbuh optimum pada suhu 33–35°C. Bersifat oksidasi negatif dan katalase positif. Bakteri ini memiliki kemampuan untuk menggunakan rantai hidrokarbon sebagai sumber nutrisi, sehingga mampu meremidiasi tanah yang tercemar. Bakteri ini bisa menggunakan amonium dan garam nitrit sebagai sumber nitrogen, akan tetapi tidak memiliki pengaruh yang signifikan. D-glukosa adalah satu-satunya golongan heksosa yang bisa digunakan oleh bakteri ini, sedangkan pentosa D-ribosa, D-silosa, dan L-arabinosa juga bisa digunakan sebagai sumber karbon oleh beberapa strain (Cookson, 1995).

2.4.3 Bakteri *Bacillus* sp.

Bakteri *Bacillus* sp. merupakan mikroorganisme sel tunggal, berbentuk batang pendek (biasanya rantai panjang). Mempunyai ukuran lebar 1,0-1,2 μm dan panjang 3–5 μm . Bakteri *Bacillus* sp. bakteri Gram positif dan bersifat aerob. Adapun suhu pertumbuhan maksimum yaitu 30–50°C dan minimum 5–20°C dengan pH pertumbuhan 4,3–9,3. Bakteri ini mempunyai kemampuan dalam mendegradasi minyak bumi, dimana bakteri ini menggunakan minyak bumi sebagai satu-satunya sumber karbon untuk menghasilkan energi dan pertumbuhannya. Pada konsentrasi yang rendah, bakteri ini dapat merombak

hidrokarbon minyak bumi dengan cepat. Jenis *Bacillus* sp. yang umumnya digunakan seperti *Bacillus subtilis* dan *Bacillus cereus* (Cookson, 1995).

2.5 UB Forest

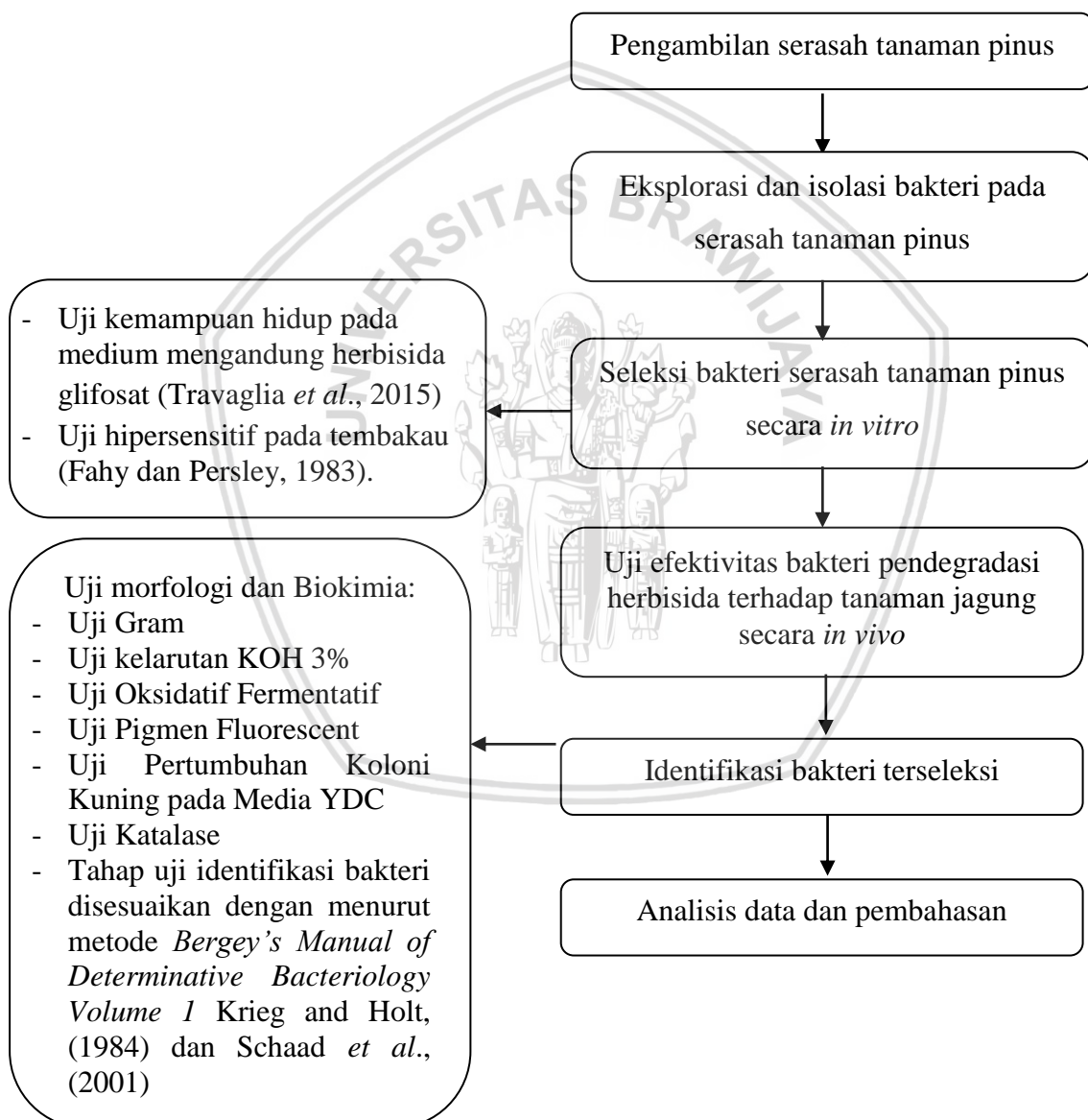
UB Forest merupakan hutan pendidikan dan pelatihan civitas Universitas Brawijaya yang terdapat di kawasan lereng Gunung Arjuno tepatnya di Dusun Summersari, Desa Tawang Argo, Kecamatan Karangploso, Kabupaten Malang. UB Forest memiliki luas 554 hektar (BUA UB, 2017). Penggunaan lahan di UB Forest digunakan untuk ditanami diantaranya tanaman pinus, tanaman kopi, dan tanaman hortikultura seperti kubis, wortel, cabai, sawi, ubi kayu, dan talas. Sistem tanam yang digunakan pada lahan UB Forest menggunakan sistem pola tanam tumpangsari dan agroforestri. Penanaman dengan sistem tersebut dilakukan karena dapat memperoleh hasil tanam dari dua atau lebih jenis tanaman yang ditanam (Prayudyaningsih *et al.*, 2015).

UB Forest sering digunakan sebagai lahan praktikum lapang, sehingga banyak peluang untuk melakukan penelitian di UB Forest. Tanaman pinus yang terdapat di UB Forest menyumbangkan serasah yang sangat melimpah. Serasah tanaman pinus dapat menjadi tempat hidup bagi bakteri dan jamur yang bermanfaat (Shimao, 2001). Saat ini serasah tanaman pinus dianggap sebagai sampah organik yang belum banyak dimanfaatkan, hal ini merupakan salah satu peluang untuk melakukan penelitian yang bertujuan untuk eksplorasi bakteri bermanfaat sangat besar.

III. METODE PENELITIAN

3.1 Kerangka Operasional Penelitian

Kerangka operasional penelitian merupakan langkah-langkah teknis yang dilakukan sehingga tahapan dalam penelitian dapat dilakukan secara bertahap dan sistematis. Kerangka operasional penelitian secara skematis disajikan pada gambar 2.



Gambar 1. Diagram alir kerangka operasional penelitian

3.2 Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Penyakit Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya Malang dan *Green House* Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya Malang. Penelitian dilaksanakan pada bulan Februari 2018 sampai bulan Juni 2018.

3.3 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain cetok, baskom, kotak es, tabung reaksi, Laminar Air Flow Cabinet (L AFC) type H.S 079S, Bunsen, autoclave type HL-36 Ae Hirayama, jarum Ose, botol media, gelas ukur, Erlenmeyer, mikroskop kamera Olympus Sxz7 series, *object glass*, botol sprayer, spatula, cawan Petri, korek api, kompor listrik, panci, timbangan analitik, mikropipet Vitlab dig 100–1000 μ l, tip, jarum suntik, corong, penggaris, spidol, lemari es, polibag, dan kamera.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain herbisida berbahan aktif glifosat, medium *nutrient agar* (NA), aquades, alkohol 70%, alkohol 90%, klorox 2%, KOH 3%, kristal violet, iodine, safranin, NaCl, larutan glukosa, gliserol, plastik wrap, plastik tahan panas, aluminium foil, kapas, spirtus, tisu steril, kompos dan tanah.

3.4 Tahapan Penelitian

Penelitian ini terdiri dari beberapa tahap, yaitu:

1. Pengambilan Serasah Tanaman Pinus

Serasah tanaman pinus diambil dengan menentukan lahan pinus di kawasan UB *Forest* Dusun Summersari, Desa Tawang Argo, Kecamatan Karangploso, Kabupaten Malang. Metode pengambilan serasah dilakukan secara komposit yaitu dengan menentukan sampel titik yang akan diambil pada satuan petak lahan. Pengambilan sampel serasah mengacu pada (Akpor *et al.*, 2006) dengan mengambil serasah dan sebagian tanah pada plot dengan luas 50 x 50 m, sampel diambil secara acak pada plot tanah kemudian dicampur menjadi satu. Pengambilan sampel dilakukan secara bersama dalam satu hari. Pemilihan serasah

yang diambil adalah bagian daun, ranting dan bagian tanaman yang telah jatuh ke tanah beserta tanah yang ada dibawahnya.

2. Eksplorasi dan Isolasi Bakteri Pada Serasah Tanaman Pinus

Isolasi bakteri menggunakan metode pengenceran atau *dilution plate*. Sampel tanah yang telah dikompositkan dan dihaluskan selanjutnya diambil sebanyak 0,5 gram dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang sudah berisi 5 ml aquades steril. Suspensi bakteri sebanyak 1 ml kemudian diambil dengan menggunakan mikropipet dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi aquades steril 4 ml. Proses pengenceran dilakukan sampai tingkat 10^{-9} . Suspensi tersebut diambil sebanyak 0,1 ml dan dimasukkan ke dalam cawan Petri yang telah berisi NA dengan metode cawan sebar. Sebanyak 100 μ L larutan diambil dari masing-masing pengenceran $10^{-2} - 10^{-9}$, kemudian diinokulasikan ke dalam cawan Petri yang telah berisi media NA dan diratakan dengan stik L steril. Biakan bakteri tersebut diinkubasi selama 24–48 jam pada suhu ruang. Setiap koloni yang tumbuh dilakukan purifikasi hingga didapatkan bakteri koloni tunggal.

3. Seleksi Bakteri Pada Serasah Tanaman Pinus Secara *In Vitro*

3.1 Uji Kemampuan Hidup Pada Medium Mengandung Herbisida Glifosat

Pengujian dilakukan dengan menumbuhkan bakteri pada medium NA yang mengandung 250 μ l glifosat (Travaglia *et al.*, 2015). Bakteri yang digunakan yaitu bakteri hasil eksplorasi dari serasah tanaman pinus pada lahan UB *Forest*. Pengujian lanjut dilakukan pada bakteri yang mampu hidup dan berkembang pada medium NA sebanyak 200 ml ditambahkan dengan herbisida glifosat sebanyak 4 ml. Bakteri ditumbuhkan pada media tersebut dengan menggunakan metode *streak*.

3.2 Uji Hipersensitif Pada Tembakau

Pengujian hipersensitif adalah uji yang dilakukan untuk membuktikan apakah bakteri tersebut termasuk patogen tanaman atau bukan. Uji ini dilakukan dengan cara tulang daun utama pada permukaan daun sebelah bawah dilukai menggunakan jarum suntik aseptik dengan cara menyayat selanjutnya suspensi

bakteri disuntikkan menggunakan spuit tanpa infiltrasi. Suspensi biakan murni bakteri yang telah berumur 48 jam disuspensikan dalam 10 ml aquades steril dan dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali dan kontrol menggunakan aquades. Pengamatan terjadinya nekrosis dilakukan selama 24 jam–72 jam setelah inokulasi. Reaksi positif ditandai dengan terbentuknya nekrosis pada tembakau. Reaksi positif menunjukkan bahwa bakteri tersebut bersifat sebagai patogen pada tanaman. Bakteri yang menunjukkan reaksi positif tidak digunakan pada tahapan seleksi berikutnya (Fahy dan Persley, 1983).

4. Uji Efektivitas Bakteri Pendegradasi Herbisida Terhadap Tanaman Jagung Secara *In Vivo*

Percobaan disusun berdasarkan rancangan acak kelompok (RAK) dengan menggunakan perlakuan menyesuaikan dengan jumlah hasil seleksi bakteri sebelumnya dengan 4 kali ulangan. Kombinasi perlakuan yang digunakan yaitu kontrol (tanpa bakteri dan tanpa glifosat), bakteri yang telah terseleksi ditambah dengan glifosat, dan herbisida berbahan aktif glifosat 9,7 g/l.

A. Persiapan Media Tanam

Media tanam yang digunakan yaitu tanah dan kompos dengan perbandingan 1:1. Tanah yang digunakan sebelumnya telah disterilkan dengan menyiramkan formalin 4% sebanyak 25 ml untuk 1 kg tanah. Formalin digunakan untuk mencegah patogen yang tidak diinginkan. Media tanam tersebut disungkup dan diinkubasi selama 7 hari, kemudian dikering anginkan selama 4 hari. Tanah yang telah disterilkan kemudian dicampur herbisida glifosat sebanyak 2,8 ml pada tanah sebanyak 2,5 kg perlakuan dengan bakteri dan glifosat serta penambahan aquades pada perlakuan tanpa glifosat. Bakteri yang telah terseleksi, kemudian dibuat suspensi sebanyak 100 ml tiap polibag berukuran 3 kg pada perlakuan dengan menggunakan bakteri. Tanah yang telah tercampur dengan bakteri terseleksi kemudian ditutup pada bagian atas polibag selama satu minggu.

B. Perlakuan Tanaman Jagung

Benih jagung yang sehat dipilih dan direndam dalam air selama 24 jam. Permukaan benih disterilisasi menggunakan 0,2 % NaOCl dan alkohol 70 % serta

dibilas dengan air steril sebanyak 4–5 kali. Perlakuan benih diulang sebanyak 4 kali.

C. Penanaman Tanaman Jagung

Benih jagung ditanam di polibag dengan ukuran 3 kg sejumlah 5 benih tiap polibag. Benih dimasukkan ke dalam media tanam sedalam 10 cm. Selama pengujian tanaman jagung disiram setiap pagi dan diberi pupuk dasar anorganik pada awal tanam berupa NPK 15:15:15 sebanyak 2,27 gram tiap polibag. Benih ditanam selama 15 hari untuk pertumbuhan.

5. Variabel Pengamatan

A. Tinggi Tanaman

Dilakukan dengan cara mengukur tinggi tanaman dengan menggunakan penggaris yang diukur dari pangkal hingga ujung tanaman. Hasil pengukuran tinggi tanaman dinyatakan dalam satuan cm. Pengamatan dilakukan setiap 3 hari sekali sebanyak 5 kali.

B. Panjang akar

Pengamatan panjang akar dilakukan dengan mencabut akar dari dalam tanah di polibag. Akar dibersihkan dari sisa tanah dengan cara disiram menggunakan air mengalir. Cara mengukur panjang akar dengan mengukur panjang akar utama dari pangkal hingga ujung akar secara horizontal menggunakan penggaris. Hasil pengukuran panjang akar dinyatakan dalam satuan cm. Pengamatan dilakukan 15 hst.

C. Berat basah

Berat basah tanaman diukur menggunakan timbangan digital dengan cara menimbang tanaman jagung yang telah dibersihkan dari sisa tanah dengan cara disiram dengan air mengalir. Hasil pengukuran berat basah dinyatakan dalam satuan gram. Pengamatan dilakukan 15 hst.

D. Berat kering

Berat kering tanaman diukur membersihkan tanaman jagung dari sisa tanah dengan cara disiram dengan air mengalir, kemudian sampel tanaman dimasukkan ke dalam amplop untuk dioven selama 72 jam pada suhu 65°C. Selanjutnya ditimbang menggunakan timbangan digital. Hasil pengukuran berat kering dinyatakan dalam satuan gram. Pengamatan dilakukan 15 hst.

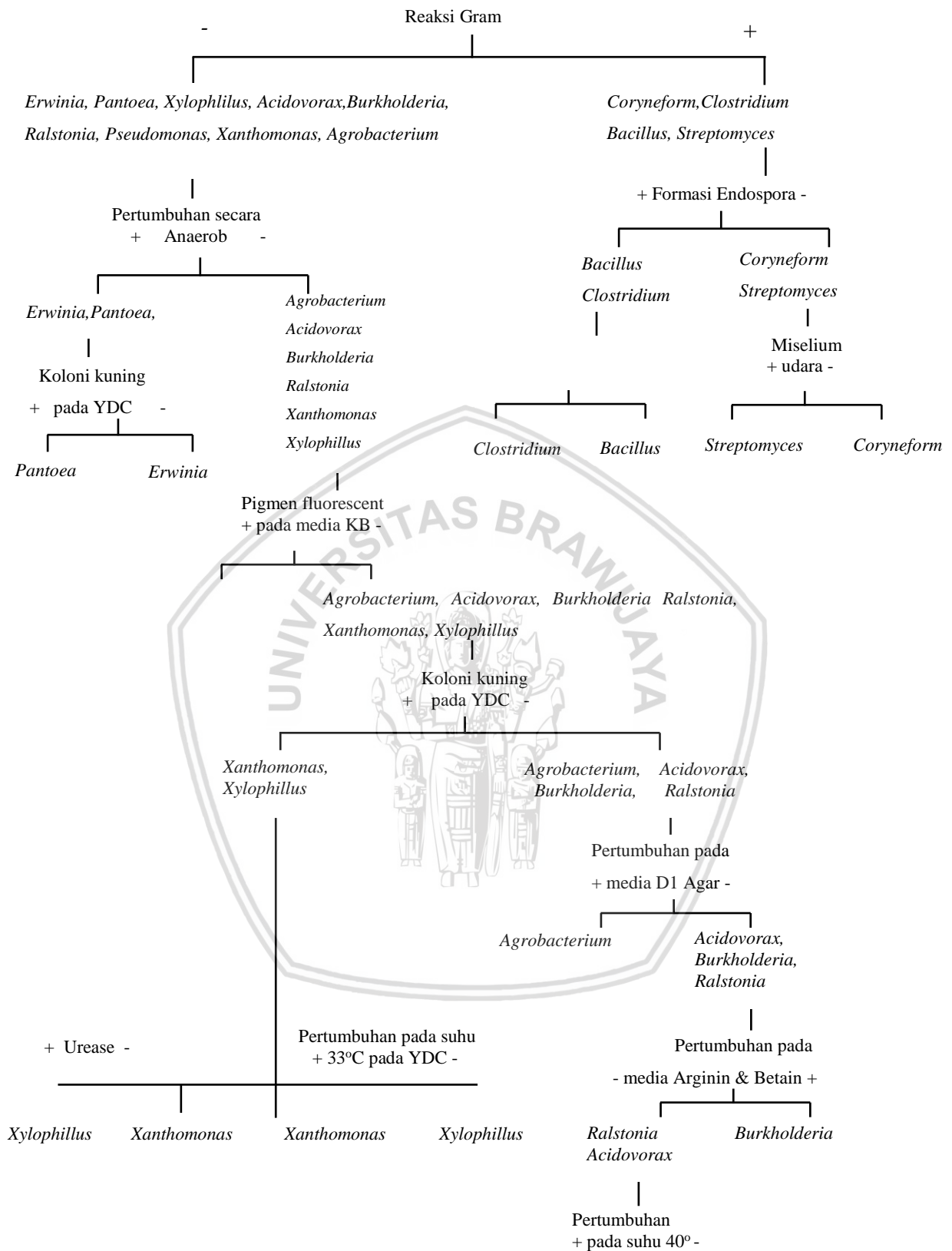
6. Identifikasi bakteri terseleksi

Identifikasi bakteri dilakukan dengan cara identifikasi secara morfologi dan fisiologi. Proses identifikasi morfologi meliputi bentuk, tepi, warna, dan permukaan koloni. Pengamatan dilakukan untuk mengetahui morfologi koloni bakteri agar mudah diidentifikasi secara morfologi dengan perbandingan yang sudah ada sebelumnya.

Penentuan Genus bakteri dilakukan berdasarkan *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology Volume 1* (Krieg and Holt, 1984) dan (Schaad *et al.*, 2001). Beberapa metode yang digunakan adalah sebagai berikut (Gambar 3):

A. Uji Gram

Bakteri murni yang telah dibiakkan berumur 24 jam dibuat suspensi dengan aquades steril. Bakteri tersebut diambil satu ose diletakkan diatas gelas objek yang telah disterilkan diatas api Bunsen hingga kering, kemudian dilakukan pengecatan dengan kristal violet sebanyak 1 tetes dan didiamkan 1 menit, lalu dicuci dengan air mengalir dan kering anginkan diatas api Bunsen. Langkah selanjutnya meneteskan gelas objek tersebut dengan larutan iodine dan didiamkan 1 menit kemudian dicuci dengan air mengalir dan dikering-anginkan. Selanjutnya meneteskan gelas objek tersebut dengan alkohol 70% selama 1 menit, kemudian dicuci dengan air mengalir dan dikering-anginkan. Pengecatan selanjutnya menggunakan safranin selama 1 menit, kemudian dicuci dengan air mengalir dan dikering-anginkan. Pengamatan gelas objek dilakukan dibawah mikroskop dan ditetesi minyak immerse. Bakteri Gram positif akan menunjukkan warna ungu dan bakteri Gram negatif akan berwarna merah (Schaad *et al.*, 2001).



Gambar 2. Diagram pengujian bakteri hingga tingkat genus (Schaad *et al.*, 2001)

B. Uji Kelarutan KOH 3%

Bakteri yang telah dibiakkan berumur 24 jam disuspensikan diatas gelas objek yang sebelumnya telah ditetesi dengan KOH 3%. Suspensi tersebut ditarik-tarik ke arah atas atau diangkat dengan menggunakan jarum ose. Reaksi positif terjadi apabila bakteri tidak membentuk benang lendir dan reaksi negatif terjadi bila suspensi bakteri membentuk benang atau berlendir (Schaad *et al.*, 2001).

C. Uji Oksidatif Fermentatif

Pengujian dilakukan dengan menumbuhkan bakteri uji pada media fermentasi glukosa dengan pH 7 pada tabung reaksi. Media terdiri dari pepton 2 gram, NaCl 5 gram, KH_2PO_4 0,3 gram, agar 3 gram, Bromothymoblue (1%) 3 ml. Bahan tersebut dicampur dan dilarutkan dalam aquades 1 liter kemudian disterilkan. Setiap tabung ditambahkan dengan 0,5 ml larutan glukosa 10% secara aseptis. Biakan murni bakteri berumur 24 jam ditusukkan pada 2 tabung reaksi yang telah berisi media padat Oksidatif Fermentatif. Salah satu tabung ditutup dengan parafin dan diinkubasikan selama 7–14 hari. Jika terjadi perubahan warna menjadi kuning pada media yang tidak ditutupi parafin maka reaksi bersifat oksidatif, sedangkan perubahan warna terjadi pada kedua tabung, maka reaksi bersifat fermentatif (Schaad *et al.*, 2001).

D. Uji Produksi Pigmen Fluorescent

Pengujian pigmen fluorescent bertujuan untuk melihat kemampuan bakteri menghasilkan pigmen fluorescent. Bakteri ditumbuhkan pada media selektif King'B dengan menggunakan metode *streak plate* dan diinkubasi selama 24–48 jam, kemudian hasil biakan bakteri yang telah tumbuh diamati dibawah sinar ultra violet (UV). Reaksi produksi pigmen fluorescent bersifat positif jika bakteri memproduksi pigmen hijau yang berpendar (Schaad *et al.*, 2001).

E. Uji Pertumbuhan Koloni Kuning pada Media YDC

Pengujian pertumbuhan koloni kuning pada media YDC bertujuan untuk melihat koloni bakteri tumbuh pada media YDC, sehingga dapat dibedakan termasuk ke dalam genus *Pantoea* atau *Erwinia*. Media YDC terdiri dari yeast

ekstrak 10 gram, glukosa 20 gram, CaCO_3 20 gram, dan agar 15 gram yang dilarutkan dalam aquades 1 liter. Media disterilkan dengan autoclave pada 121°C . Bakteri digoreskan pada media YDC dan diinkubasi pada suhu 30°C . Reaksi positif apabila terbentuk koloni berwarna kuning yang merupakan bakteri genus *Pantoea* dan koloni berwarna putih yang merupakan bakteri dari genus *Erwinia* (Schaad *et al.*, 2001).

F. Uji Katalase

Uji katalase adalah uji yang digunakan untuk mengetahui aktivitas katalase pada suatu bakteri. Uji katalase digunakan dengan cara meneteskan 2 tetes larutan H_2O_2 3% pada kaca obyek, kemudian bakteri yang telah berumur 24 jam diambil dan dicampurkan pada larutan H_2O_2 tersebut. Reaksi positif ditandai dengan terbentuknya gelembung udara (Schaad *et al.*, 2001).

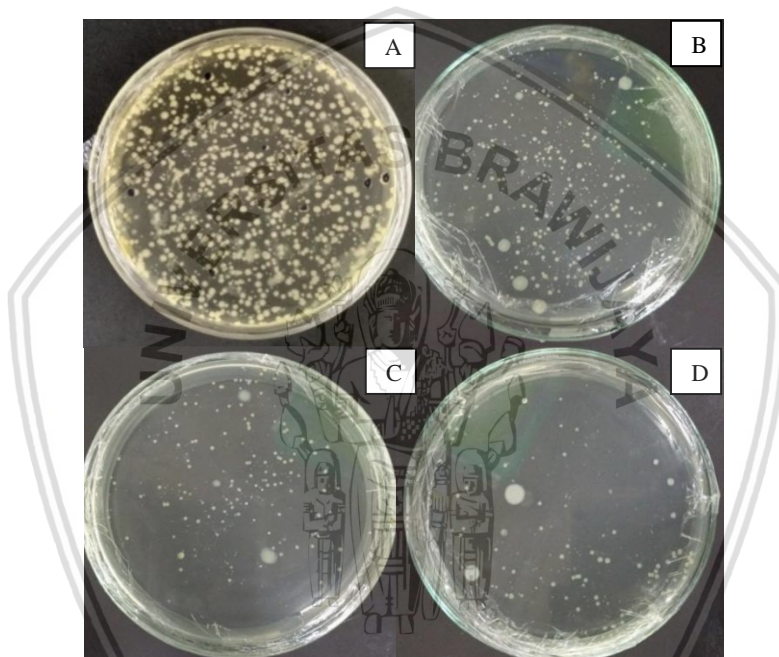
3.5 Analisis Data

Data pengamatan yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan analisis ragam (ANOVA) pada taraf 5% untuk mengetahui pengaruh perlakuan. Apabila hasilnya berbeda nyata maka dilanjutkan dengan uji DMRT pada taraf nyata 5%. Analisis data diolah menggunakan Microsoft excel 2010 dan DSAASTAT.

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Isolasi Bakteri dari Serasah Tanaman Pinus

Serasah tanaman pinus diambil dari serasah tanaman pinus di *UB Forest* yang terletak di kawasan Dusun Summersari, Desa Tawang Argo, Kecamatan Karangploso, Kabupaten Malang. Isolasi bakteri dengan menggunakan metode pengenceran bertingkat. Pengenceran pada tingkat 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-8} , dan 10^{-9} dipurifikasi dengan memilih morfologi koloni bakteri yang berbeda pada media NA (Gambar 4).



Gambar 1. Hasil pengenceran setelah 48 jam pada cawan Petri dengan menggunakan media *nutrient agar*. (A): 10^{-5} , (B): 10^{-6} , (C): 10^{-8} , (D): 10^{-9}

Jumlah bakteri yang ditemukan pada serasah tanaman pinus adalah 48 isolat bakteri dengan morfologi yang berbeda. *UB Forest* memiliki produktivitas yang sangat tinggi dalam serasah. Serasah tanaman pinus yang akan mengalami proses dekomposisi. Proses dekomposisi dimulai dari kolonisasi bahan organik seperti serasah yang didekomposisi menjadi jaringan mati melalui mekanisme enzimatik. Bakteri pengurai akan mengeluarkan enzim untuk menghancurkan molekul organik kompleks seperti protein dari tumbuhan yang telah mati (Wijiyono, 2009).

4.2 Seleksi Bakteri pada Medium Mengandung Herbisida Glifosat secara *In Vitro*

Seleksi bakteri dilakukan pada media NA yang mengandung herbisida glifosat secara *in vitro*. Seleksi dilakukan pada 48 isolat bakteri hasil eksplorasi (Tabel 1).

Tabel 1. Hasil seleksi bakteri pada medium mengandung herbisida glifosat secara *in vitro*

Kode Isolat	Hasil Seleksi	Kode Isolat	Hasil Seleksi
P5A	-	P6J	-
P5B	-	P6K	-
P5C	-	P6L	-
P5D	-	P6M	-
P5E	-	P6N	-
P5F	-	P6O	-
P5G	-	P6P	-
P6A	-	P8A	+
P6B	-	P8B	+
P6C	-	P8C	+
P6D	-	P8D	+
P6E	-	P8E	+
P6F	-	P8F	+
P6G	-	P8G	+
P6H	-	P8H	-
P6I	-	P8I	-
P8J	+	P9B	-
P8K	+	P9C	-
P8L	+	P9D	+
P8M	+	P9E	+
P8N	+	P9F	-
P8O	+	P9G	+
P8P	+	P9H	-
P9A	+	P9I	+

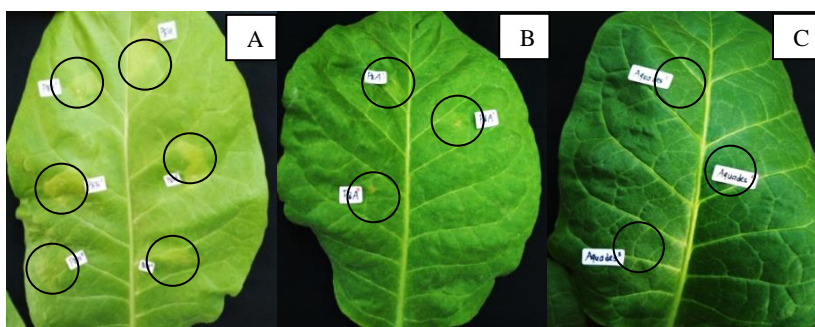
Keterangan: (+) = menunjukkan bakteri toleran terhadap herbisida glifosat;
 (-) = menunjukkan bakteri tidak toleran terhadap herbisida glifosat

Pada hasil pengujian menunjukkan bahwa 19 bakteri yaitu isolat P8A, isolat P8B, isolat P8C, isolat P8D, isolat P8M, isolat P8N, isolat P8O, isolat P8P, isolat P8J, isolat P8K, isolat P8L, isolat P9I, isolat P8E, isolat P8F, isolat P8G, isolat P9A, isolat P9D, isolat P9E, isolat P9G toleran terhadap media yang mengandung herbisida glifosat. Hal ini ditunjukkan dengan bakteri yang dapat tumbuh 48 jam setelah dilakukan *streak* pada media yang mengandung herbisida glifosat.

Menurut Emalinda *et al.* (2003) menyatakan bahwa penggunaan herbisida berbahan aktif glifosat dapat menurunkan tingkat keragaman mikrobia di dalam tanah. Suatu mikrobia dapat bersifat hanya toleran terhadap glifosat dan ada juga ada yang bersifat toleran dan memiliki kemampuan mendegradasi glifosat. Bakteri pendegradasi dapat mengeluarkan suatu enzim untuk dapat merombak suatu senyawa kompleks menjadi senyawa yang lebih sederhana. Salah satu contohnya adalah bakteri *Pseudomonas putida* yang dapat menghasilkan senyawa organofosfat hidrolase yang berguna untuk mengkatalis reaksi hidrolisis pestisida organofosfat. Pada reaksi hidrolisis ini, enzim organofosfat hidrolase akan menghidrolisis ikatan fosfoester dari organofosfat serta mengurangi toksisitas organofosfat (Wijaya *et al.*, 2014).

4.3 Uji Hipersensitif pada Tembakau

Uji hipersensitif dilakukan menggunakan tanaman tembakau yang berumur 3 bulan. Bakteri dinyatakan bereaksi positif pada uji hipersensitif apabila terbentuk gejala nekrosis berupa bercak kuning dan mengering (Gambar 5a) dan apabila tidak terbentuk nekrosis maka bakteri dinyatakan bereaksi negatif (Gambar 5b)



Gambar 2. Hasil uji hipersensitif pada tanaman tembakau pada 2 hari setelah inokulasi. (A): isolat P8N nekrosis dan isolat P8M nekrosis, (B): Isolat P8A tidak nekrosis, (C): Kontrol

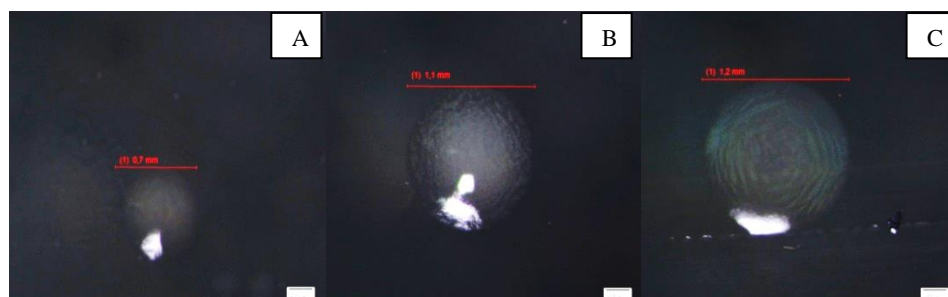
Hasil uji hipersensitif pada 19 isolat bakteri yang telah terseleksi sebelumnya sebagian menunjukkan gejala nekrosis yakni sebanyak 9 bakteri dan sebagian lagi tidak menunjukkan gejala nekrosis yakni sebanyak 10 bakteri. Bakteri terseleksi yang menunjukkan gejala nekrosis yakni isolat P8D, P8M, P8N, P8L, P9I, P8G, P9A, P9D, P9E. Sedangkan bakteri terseleksi yang tidak menunjukkan gejala nekrosis yakni isolat P8A, P8B, P8C, P8O, P8P, P8J, P8K, P8E, P8F, P9G. Daun tembakau yang telah diinokulasikan bakteri terseleksi, mengalami perubahan warna menjadi kuning pada hari kedua dan ketiga setelah inokulasi pada isolat yang bersifat patogen.

Menurut Aini (2012), pengujian hipersensitif adalah uji yang dilakukan untuk membuktikan apakah bakteri tersebut termasuk patogen tanaman atau bukan. Apabila dalam pengujian terbentuk nekrosis maka bakteri diduga patogen tanaman. Reaksi hipersensitif merupakan respon tanaman inang terhadap adanya patogen sebagai bentuk pertahanan diri dari patogen. Nekrosis terjadi karena tanaman inang mematikan diri di sekitar bagian yang terinfeksi patogen, sehingga dapat memutuskan translokasi air dan nutrisi untuk patogen.

4.4 Karakterisasi Bakteri Serasah Tanaman Pinus

4.4.1 Karakterisasi Morfologi Koloni

Dari hasil pengamatan morfologi diketahui bahwa bakteri yang toleran terhadap media mengandung herbisida glifosat memiliki morfologi koloni yang berbeda. Bakteri umumnya memiliki bentuk bulat dengan elevasi cembung, berwarna putih keruh, putih bening dan putih susu serta memiliki tepi yang rata serta mukoid atau berlendir (Gambar 6).



Gambar 3. Bentuk koloni bakteri, (A): Isolat P8A. (B) Isolat P8B, (C): Isolat P8C

Karakterisasi morfologi koloni bakteri dilakukan dengan mengamati bentuk koloni dari biakan bakteri. Hasil karakterisasi kesepuluh isolat bakteri yang tidak menimbulkan nekrosis selama pengujian hipersensitif pada tanaman tembakau disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Karakteristik morfologi koloni bakteri terseleksi

Isolat	Karakteristik Morfologi				
	Bentuk	Elevasi	Warna	Tepi	Mukoid
P8A	Bulat	Cembung	Putih keruh	Rata	Mukoid
P8B	Bulat	Cembung	Putih keruh	Rata	Mukoid
P8C	Bulat	Cembung	Putih susu	Rata	Mukoid
P8O	Oval	Cembung	Putih bening	Rata	Mukoid
P8E	Bulat	Cembung	Putih keruh	Rata	Mukoid
P8F	Bulat	Cembung	Putih susu	Rata	Mukoid
P8J	Bulat	Cembung	Putih susu	Rata	Mukoid
P8K	Bulat	Cembung	Putih susu	Rata	Mukoid
P8P	Bulat	Cembung	Putih susu	Rata	Mukoid
P9G	Bulat	Cembung	Putih susu	Rata	Mukoid

4.4.2 Karakterisasi Bakteri secara Fisiologi Dan Biokimia

Tahapan selanjutnya setelah dilakukan karakterisasi secara morfologi pada bakteri yang telah terseleksi, kemudian dilanjutkan dengan karakterisasi bakteri secara fisiologi dan biokimia dilakukan dengan beberapa tahapan pengujian identifikasi yang berpedoman pada buku Bergey's Determinative Bacteriology (Holt *et al.*, 1994) dan (Schaad *et al.*, 2001) diantaranya yaitu pengujian KOH 3%, pengujian perwarnaan gram, pengujian oksidatif-fermentatif (OF), pengujian pigmen fluorescent pada media selektif King'B, pengujian pertumbuhan pada media selektif YDC dan pengujian katalase. Hasil uji fisiologi dan biokimia bakteri dapat dilihat pada Tabel 3.

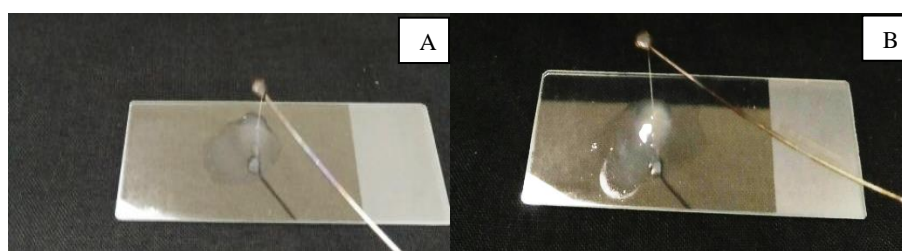
Tabel 3. Karakterisasi uji fisiologi dan biokimia pada bakteri terseleksi

Isolat	Pengujian					
	KOH 3%	Perwarnaan Gram	OF	Pigmen fluorescent pada media King's B	Media YDC	Katalase
P8A	Berlendir	Gram negatif bentuk batang	F	TU	Kuning	+
P8B	Berlendir	Gram negatif bentuk batang	F	TU	Kuning	+
P8C	Berlendir	Gram negatif bentuk batang	F	TU	Putih	+
P8O	Berlendir	Gram negatif bentuk batang	O	+	TU	+
P8E	Berlendir	Gram negatif bentuk batang	F	TU	Kuning	+
P8F	Berlendir	Gram negatif bentuk batang	F	TU	Putih	+
P8J	Berlendir	Gram negatif bentuk batang	F	TU	Putih	+
P8K	Berlendir	Gram negatif bentuk batang	F	TU	Putih	+
P8P	Berlendir	Gram negatif bentuk batang	F	TU	Putih	+
P9G	Berlendir	Gram negatif bentuk batang	F	TU	Putih	+

Keterangan: Karakterisasi fisiologi dan biokimia bakteri, (-) reaksi negatif, (+): reaksi positif, (F): fermentatif, (O): oksidatif, (TU): tidak dilakukan.

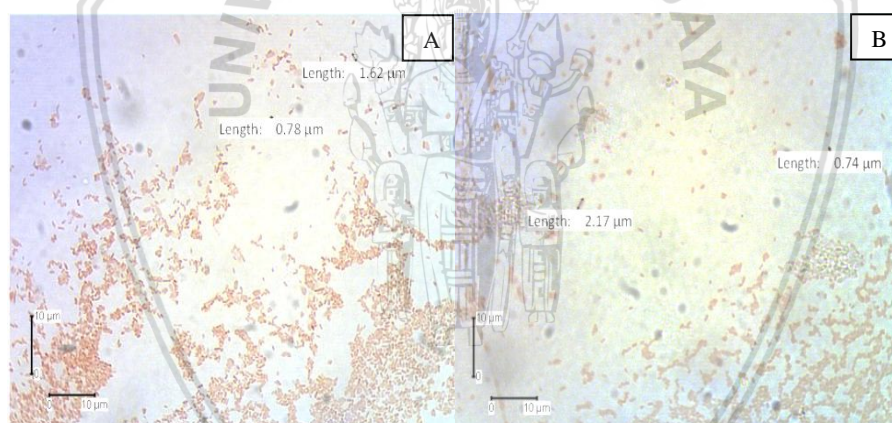
A. Uji Gram

Hasil uji KOH kesepuluh isolat bakteri termasuk kedalam bakteri gram negatif (P8A, P8B, P8C, P8O, P8E, P8F, P8J, P8K, P8P, P9G) yang ditandai dengan adanya lendir dari suspensi bakteri yang diuji (Gambar 7). Menurut Schaad *et al.* (2001), Gram negatif jika pada pengujian KOH isolat bakteri terdapat lendir jika ose diangkat, sedangkan pada bakteri Gram positif tidak berlendir.



Gambar 4. Hasil uji KOH yang menghasilkan lendir. (A): Isolat P8O dan (B): Isolat P8P

Uji gram dilakukan untuk mengetahui bakteri tersebut termasuk Gram positif atau Gram negatif. Hasil uji pewarnaan Gram, setelah diamati dengan mikroskop dengan perbesaran 100x kesepuluh isolat (P8A, P8B, P8C, P8O, P8E, P8F, P8J, P8K, P8P, P9G) bakteri memiliki bentuk batang dan berwarna merah yang bersifat Gram negatif (Gambar 8). Berdasarkan Schaad *et al.* (2001), hasil uji Gram dengan pewarnaan untuk bakteri Gram negatif terlihat sel bakteri berwarna merah sedangkan bakteri Gram positif berwarna biru kehitaman.



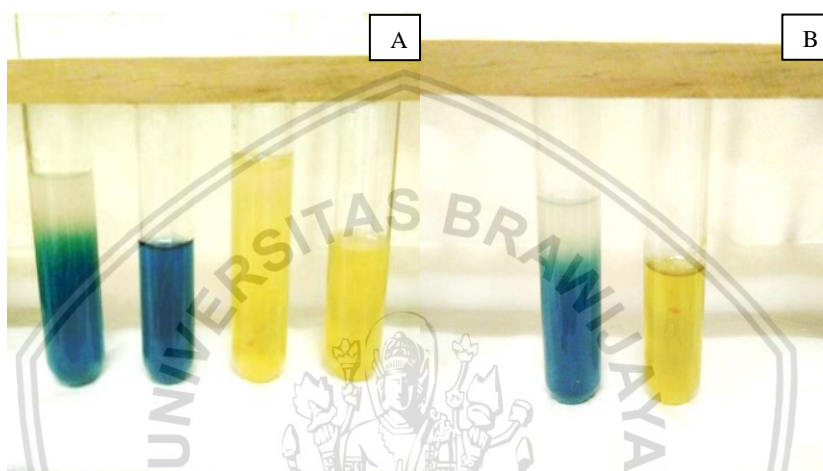
Gambar 5. Hasil sel bakteri Gram negatif pada perbesaran 100x. (A): Isolat P8C dan (B): P8E

Hidayat *et al.* (2012) adanya perbedaan struktur dinding sel bakteri Gram positif dan Gram negatif menyebabkan perbedaan reaksi dalam penyerapan zat warna. Sebagian besar dinding sel bakteri gram positif terdiri dari peptidoglikan, sedangkan dinding sel bakteri Gram negatif mempunyai kandungan lipida yang tinggi dibandingkan dengan dinding sel bakteri Gram positif. Lipida dapat larut dalam alkohol sehingga pori-pori dinding sel membesar dan meningkatkan daya larut zat warna ungu pada dinding sel bakteri Gram negatif ketika pemberian kristal violet. Penambahan safranin pada tahap akhir inilah yang menyebabkan sel

bakteri Gram negatif dapat berwarna merah, karena zat warna kristal violet-yodium terlarut oleh pemberian alkohol kemudian dinding sel mengikat zat warna kedua.

B. Uji Oksidatif – Fermentatif

Pada pengujian pertumbuhan oksidatif – fermentatif menghasilkan satu isolat bakteri bersifat oksidatif dan sembilan isolat bakteri bersifat fermentatif. (Gambar 9).



Gambar 6. Hasil uji OF. (A): Kontrol dan isolat P8A dan (B): Isolat P8O

Isolat P8O menghasilkan reaksi oksidatif sedangkan pada isolat P8A, isolat P8B, isolat P8C, isolat P8E, isolat P8F, isolat P8J, isolat P8K, isolat P8P, dan isolat P9G menghasilkan reaksi fermentatif. Bakteri bersifat fermentatif ditandai dengan media ditutup *water agar* terjadi perubahan warna menjadi kuning pada tabung sedangkan bakteri oksidatif ditandai dengan tidak terjadi perubahan warna pada tabung yang ditutup *water agar*.

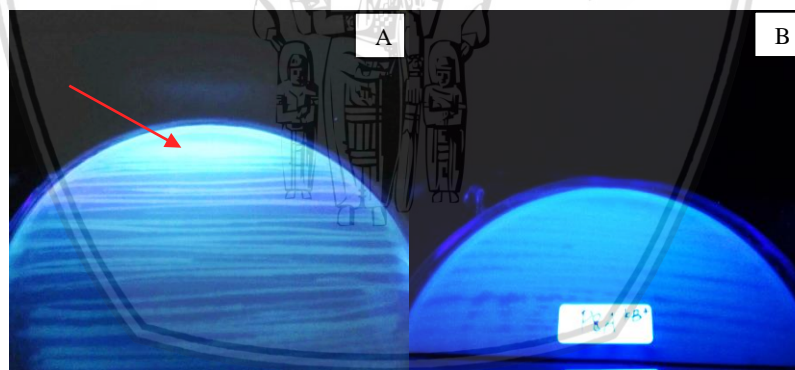
Isolat P8A, isolat P8B, isolat P8C, isolat P8E, isolat P8F, isolat P8J, isolat P8K, isolat P8P, dan isolat P9G yang bersifat fermentatif karena bakteri tersebut mampu melakukan fermentasi glukosa pada kedua tabung baik yang ditutup maupun tidak ditutup *water agar*. Bakteri mampu melakukan fermentasi glukosa bertujuan untuk melakukan metabolisme sehingga bakteri tumbuh secara anaerob. Fermentasi merupakan salah satu proses aktivitas mikroba dengan merubah senyawa makromolekul organik menjadi senyawa yang lebih sederhana pada kondisi anaerob. Fermentasi dapat menghasilkan berbagai senyawa akhir seperti

fermentasi karbohidrat yang dapat menghasilkan asam laktat dan propioner, ester-ester, keton dan gas (Pelezae dan Michael, 2005).

Isolat P8O merupakan bakteri bersifat oksidatif karena hanya mampu melakukan fermentasi glukosa pada tabung yang tidak ditutupi *water agar* sehingga bakteri tersebut dapat tumbuh pada kondisi aerob saja. Menurut Schaad *et al.* (2001), sifat oksidatif menunjukkan bahwa bakteri hidup dalam kondisi suasa aerob yang ditandai pada tabung yang ditutup *water agar* tetap berwarna biru.

C. Uji Pigmen Fluorescent pada Media King's B

Pengujian pigmen fluorescent bertujuan untuk melihat kemampuan bakteri uji dalam menghasilkan pigmen fluorescent. Bakteri yang mampu menghasilkan pigmen fluorescent menampakkan warna hijau muda menyala disekitar koloni bakteri yang dilihat dibawah sinar ultra violet (Schaal *et al.*, 2001). Hasil pengujian didapatkan bahwa isolat P8O menghasilkan pigmen fluorescent (Gambar 10).

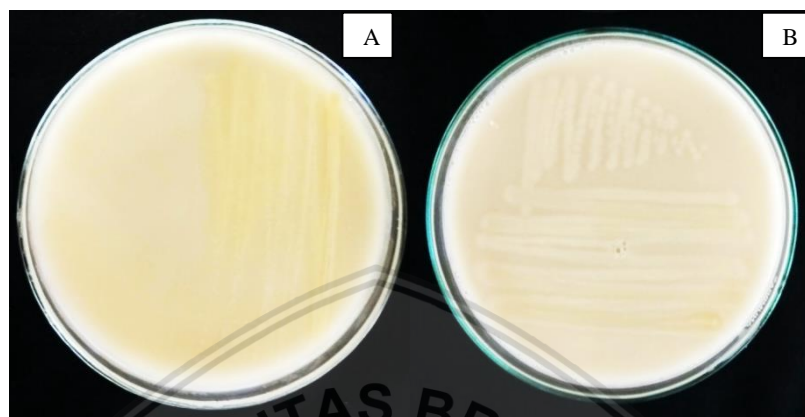


Gambar 7. Hasil Uji pigmen fluorescent. (A): Isolat P8O berpendar dan (B): Isolat P8A tidak berpendar

D. Pertumbuhan pada Media YDC

Uji pertumbuhan pada media YDC dilakukan untuk bakteri mampu hidup kondisi anaerob yaitu isolat P8A, isolat P8B, isolat P8C, isolat P8E, isolat P8F, isolat P8J, isolat P8K, isolat P8P, isolat P9G. Pada isolat (P8A, P8B, P8E) bakteri termasuk kedalam genus *Pantoea* sp. karena pada media YDC koloni berwarna kuning (Gambar 11a), sedangkan pada isolat (P8C, P8F, P8J, P8K, P8P, P9G) termasuk kedalam genus *Erwinia* sp. karena pada media YDC koloni berwarna

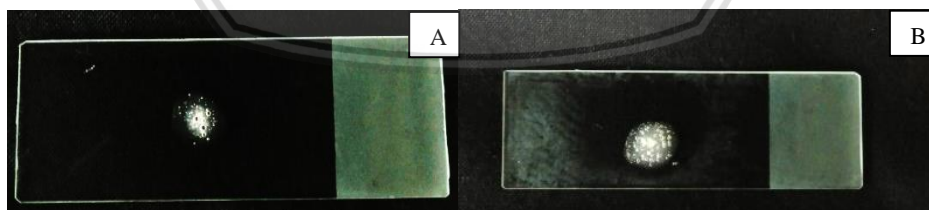
putih (Gambar 11b). Menurut Schaet *et al.* (2001), uji YDC untuk mengetahui bakteri termasuk kedalam genus *Pantoea* atau *Erwinia*. Bakteri yang dapat menghasilkan koloni berwarna putih diidentifikasi merupakan bakteri dari Genus *Erwinia*.



Gambar 8. Hasil uji pertumbuhan pada media selektif YDC. (A): Isolat P8E berwarna kuning dan (B): Isolat P8F berwarna putih

E. Uji Katalase

Uji katalase dilakukan untuk mengetahui ada atau tidaknya enzim katalase pada bakteri yang diuji. Berdasarkan hasil uji katalase kesepuluh isolat bakteri menunjukkan reaksi positif setelah ditetesi dengan larutan H_2O_2 (Gambar 12). Reaksi positif ditandai dengan munculnya gelembung-gelembung gas pada suspensi. Hal tersebut menunjukkan bahwa semua bakteri yang diuji mengandung enzim katalase.



Gambar 9. Hasil uji katalase. (A): isolat P8J dan (B): Isolat K

Katalase merupakan salah satu enzim yang digunakan mikroorganisme untuk menguraikan hidrogen peroksida menjadi oksigen dan air. Kebanyakan bakteri memproduksi enzim katalase untuk pertumbuhan aerobik karena akan memecah H_2O_2 yang bersifat racun terhadap sel mikroba. Senyawa tersebut bersifat toksik terhadap sel karena mampu menginaktifkan enzim sel. Hidrogen peroksida

terbentuk sewaktu metabolisme aerob, sehingga mikroorganisme yang tumbuh dalam lingkungan aerob harus menguraikan bahan toksik tersebut (Hidayat *et al.*, 2012).

4.4.3 Identifikasi Bakteri Terseleksi

Hasil identifikasi kesepuluh isolat (P8A, P8B, P8C, P8O, P8E, P8F, P8J, P8K, P8P, P9G) bakteri terseleksi hingga tingkat Genus berdasarkan *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* (Krieg and Holt, 1984) dan Schaad *et al.* (2001) adalah sebagai berikut:

a. Genus *Pantoea* sp.

Isolat bakteri P8A, P8B, dan P8E secara morfologi memiliki koloni berbentuk bulat, berwarna putih keruh, memiliki tepi yang rata dengan elevasi cembung. Pengujian fisiologi dan biokimia menunjukkan bakteri tersebut merupakan Gram negatif yang berbentuk batang bersifat fermentatif, katalase positif, memiliki koloni berwarna kuning pada media YDC. Menurut *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* dan Schaad *et al.* (2001) bakteri dengan karakteristik tersebut termasuk dalam genus *Pantoea* sp.

b. Genus *Erwinia* sp.

Isolat bakteri P8C, P8F, P8J, P8K, P8P, dan P9G secara morfologi memiliki koloni berbentuk bulat, berwarna putih susu, memiliki tepi yang rata dengan elevasi cembung. Pengujian fisiologi dan biokimia menunjukkan bakteri tersebut merupakan Gram negatif yang berbentuk batang bersifat fermentatif, katalase positif, memiliki koloni berwarna putih pada media YDC. Menurut *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* dan Schaad *et al.* (2001) bakteri dengan karakteristik tersebut termasuk dalam genus *Erwinia* sp.

c. Genus *Pseudomonas* sp.

Isolat bakteri P8O secara morfologi memiliki koloni berbentuk oval, berwarna putih bening, memiliki tepi yang rata dengan elevasi cembung. Pengujian fisiologi dan biokimia menunjukkan bakteri tersebut merupakan Gram negatif yang berbentuk batang bersifat oksidatif, katalase positif, mampu berpendar pada media

King's B. Menurut *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* dan Schaad *et al.* (2001) bakteri dengan karakteristik tersebut termasuk dalam genus *Pseudomonas* sp.

4.5 Uji Efektivitas Bakteri Pendegradasi Herbisida Terhadap Tanaman

Jagung secara *In Vivo*

A. Tinggi Tanaman Jagung

Hasil uji lanjut data tinggi tanaman jagung pada taraf 5% menunjukkan data yang berbeda nyata pada 6 hst, 9 hst, 12 hst, dan 15 hst. Pada 6 hst, 9 hst, 12 hst, dan 15 hst hasil uji lanjut menunjukkan bahwa isolat P8O lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan isolat bakteri lainnya dan kontrol herbisida. Rerata tinggi tanaman jagung pada 6 hst yakni sebesar 1,90–20,06 cm sedangkan rerata tinggi tanaman jagung pada 9 hst yakni sebesar 3,24–25,10 cm. Pada 12 hst rerata tinggi tanaman jagung yakni sebesar 5,40–32,29 cm. Pada akhir pengamatan yakni 15 hst, rerata tinggi tanaman jagung pada 15 hst yakni sebesar 9,01–41,76 cm (Tabel 4). Hasil tersebut dapat diartikan bahwa bakteri dari serasah tanaman pinus di UB *Forest* mampu meningkatkan tinggi tanaman jagung.

Isolat bakteri yang digunakan dalam perlakuan diduga bukan hanya mampu meremediasi tanah akan tetapi juga mampu meningkatkan pertumbuhan tanaman dengan variabel tinggi tanaman. Soesanto *et al.*, (2008) menyatakan bahwa bakteri *Pseudomonas fluorescent* dapat memberikan pengaruh menguntungkan terhadap perkembangan dan pertumbuhan tanaman, yaitu menyebabkan pertambahan tinggi tanaman. Adanya peningkatan tinggi tanaman karena bakteri *P. fluorescent* mampu menghasilkan senyawa hormon tumbuh sehingga dikenal sebagai *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* (PGPR). Bakteri *P. fluorescent* mampu menghasilkan auksin lebih tinggi dibandingkan dengan isolat sejenis lainnya.

Bakteri dapat digunakan agens bioremediator untuk menangani permasalahan pada lahan tercemar. Contohnya bakteri *Pseudomonas* sp. memiliki peran yang sangat penting dalam proses biodegradasi berbagai macam polimer antara lain salah satunya pestisida. Beberapa jenis enzim yang dihasilkan oleh *Pseudomonas* sp. yang berperan dalam biodegradasi adalah serine hidrolase, esterase dan lipase (Shimao, 2001).

Tabel 4. Rerata tinggi tanaman jagung

Perlakuan	Rerata tinggi tanaman (cm)				
	3 hst	6 hst	9 hst	12 hst	15 hst
	($\bar{x} \pm SD$)	($\bar{x} \pm SD$)	($\bar{x} \pm SD$)	($\bar{x} \pm SD$)	($\bar{x} \pm SD$)
Herbisida+Isolat P8A	2,38±0,75 <i>bc</i>	4,02±0,87 <i>bc</i>	6,06± 1,78 <i>ab</i>	9,98±1,89 <i>abc</i>	14,64±3,19 <i>a</i>
Herbisida+Isolat P8B	1,90±1,35 <i>ab</i>	2,54±1,94 <i>ab</i>	5,25±2,33 <i>a</i>	7,79±2,88 <i>abc</i>	13,71±6,38 <i>a</i>
Herbisida+Isolat P8C	1,63±0,78 <i>ab</i>	2,22±1,02 <i>ab</i>	5,11±4,07 <i>a</i>	7,29±5,65 <i>ab</i>	11,68±5,22 <i>a</i>
Herbisida+Isolat P8O	3,98±2,01 <i>c</i>	15,42±0,56 <i>d</i>	20,20±0,80 <i>c</i>	27,36±2,90 <i>d</i>	32,81±0,40 <i>b</i>
Herbisida+Isolat P8E	4,00±1,67 <i>c</i>	5,26±0,87 <i>c</i>	10,41±3,12 <i>b</i>	12,02±3,90 <i>c</i>	19,02±4,38 <i>a</i>
Herbisida+Isolat P8F	1,35±0,49 <i>ab</i>	3,33±2,07 <i>ab</i>	6,41±3,12 <i>a</i>	7,44±3,46 <i>abc</i>	12,27±5,47 <i>a</i>
Herbisida+Isolat P8J	2,39 ±1,32 <i>bc</i>	5,06±2,53 <i>bc</i>	10,77±5,57 <i>b</i>	12,39±6,03 <i>c</i>	17,96±8,71 <i>a</i>
Herbisida+Isolat P8K	1,71±0,59 <i>ab</i>	4,50±1,90 <i>abc</i>	7,31±3,35 <i>ab</i>	11,20±4,92 <i>abc</i>	16,25±6,53 <i>a</i>
Herbisida+Isolat P8P	1,69±0,69 <i>ab</i>	4,15±1,20 <i>bc</i>	7,82±1,70 <i>ab</i>	11,64±2,92 <i>bc</i>	17,74±3,44 <i>a</i>
Herbisida+Isolat P9G	1,52±0,73 <i>ab</i>	3,31±1,75 <i>ab</i>	4,90±1,24 <i>a</i>	6,49±1,60 <i>abc</i>	15,45±6,34 <i>a</i>
Herbisida	0,63±0,45 <i>a</i>	1,90±1,45 <i>a</i>	3,24±0,65 <i>a</i>	5,40±3,02 <i>a</i>	9,01±8,49 <i>a</i>
Aquades	8,76±0,61 <i>d</i>	20,06±0,70 <i>d</i>	25,10±0,89 <i>c</i>	32,29±0,15 <i>d</i>	41,76±0,65 <i>b</i>

Keterangan : Bilangan yang disertai huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji Duncan pada taraf kesalahan 5%, hst: hari setelah tanam

B. Panjang Akar Tanaman Jagung

Berdasarkan uji lanjut pada panjang akar tanaman jagung menghasilkan data yang berbeda nyata. Pada perlakuan dengan menggunakan isolat P8O lebih panjang dibandingkan dengan perlakuan isolat bakteri lainnya dan kontrol herbisida glifosat. Rerata panjang akar tanaman jagung yakni sebesar 8,90–29,44 cm (Tabel 5).

Tabel 5. Rerata panjang akar tanaman jagung

Perlakuan	Rerata Panjang Akar (cm) ($\bar{x} \pm SD$)
Herbisida+Isolat P8A	10,90 \pm 2,01 <i>a</i>
Herbisida+Isolat P8B	13,61 \pm 5,16 <i>a</i>
Herbisida+Isolat P8C	9,52 \pm 5,20 <i>a</i>
Herbisida+Isolat P8O	27,37 \pm 0,93 <i>b</i>
Herbisida+Isolat P8E	18,68 \pm 2,30 <i>a</i>
Herbisida+Isolat P8F	12,87 \pm 5,32 <i>a</i>
Herbisida+Isolat P8J	11,06 \pm 3,48 <i>a</i>
Herbisida+Isolat P8K	11,56 \pm 0,80 <i>a</i>
Herbisida+Isolat P8P	11,33 \pm 1,43 <i>a</i>
Herbisida+Isolat P9G	11,94 \pm 1,42 <i>a</i>
Herbisida+Herbisida	8,90 \pm 5,99 <i>a</i>
Herbisida+Aquades	29,44 \pm 0,98 <i>b</i>

Keterangan : Bilangan yang disertai huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji Duncan pada taraf kesalahan 5%,

Hal ini diduga bahwa bakteri dari serasah tanaman pinus di UB *Forest* mampu meningkatkan panjang akar tanaman jagung. Serasah tanaman pinus merupakan biodiversitas yang banyak mengandung mikroorganisme bermanfaat. Salah satu mikroorganisme yakni bakteri. Menurut Travaglia *et al*, (2015) menyatakan bahwa serasah pada *Pinus mercurii* dapat digunakan sebagai agens bioremedator. Bakteri dari genus *Pseudomonas* sp. yang digunakan untuk kegiatan bioremediasi.

Bakteri *Pseudomonas fluorescent* mempunyai kemampuan untuk melindungi akar dari infeksi patogen tanah dengan cara mengkolonisasi permukaan akar, menghasilkan senyawa kimia seperti antijamur dan antibiotik serta kompetisi dengan mikroorganisme lainnya untuk mendapatkan senyawa Fe (Supriadi, 2006).

Bakteri ini juga menghasilkan fitohormon dalam jumlah yang besar khususnya IAA (Indole Acetic Acid) untuk merangsang pertumbuhan tanaman, pemanjangan akar, dan batang pada tanaman (Rao,1994).

IAA merupakan salah satu senyawa auksin alami. IAA bergerak melalui sel-sel parenkim di korteks dan jaringan pembuluh. Pada batang, IAA bergerak secara basipetal, artinya IAA bergerak menuju dasar, bahkan jika batang dibalikkan. Pada akar, IAA bergerak secara akropetal, artinya bergerak menuju pucuk (Firmansyah, 2007). Hormon auksin mampu mengembangkan dinding sel epidermis, sehingga dinding sel epidermis yang sudah kendur menjadi mengembang, kemudian sel epidermis ini membentangi dengan cepat dan pembentangan ini menyebabkan sel sub epidermis yang menempel pada sel epidermis juga mengembang. Hal ini dapat memudahkan air masuk ke dalam batang. Masuknya air ke dalam batang akan memacu proses pemanjangan akar pada suatu tanaman (Shofiana, 2013).

Pertumbuhan akar dari adanya pengaruh auksin terhadap pertumbuhan dan perkembangan tanaman antara lain merangsang pemanjangan batang, pembentukan buah, mempercepat proses diferensiasi jaringan pembuluh sehingga merangsang pertumbuhan diameter batang. Selain itu auksin juga dapat berpengaruh dalam proses percabangan akar, dominasi apikal dan perkembangan buah baik pada tanaman monokil atau dikotil (Arismarsetiowati *et al.*, 2012).

C. Berat Basah dan Berat Kering Tanaman Jagung

Berat basah dan berat kering tanaman jagung diukur pada 15 hst menggunakan timbangan digital. Hasil uji lanjut menunjukkan bahwa berat basah dan berat dengan menggunakan isolat P8O lebih berat dibandingkan dengan perlakuan dengan menggunakan isolat bakteri lainnya dan kontrol herbisida. Rerata berat basah pada tanaman jagung yakni sebesar 3,25–24,50 gram sedangkan rerata berat kering tanaman jagung yakni sebesar 0,41–4,78 gram (Tabel 6).

Hal tersebut dapat diartikan bahwa bakteri dari serasah tanaman pinus di UB *Forest* diduga mampu meningkatkan berat basah dan berat kering tanaman jagung yang pada media pertumbuhannya telah tercemar oleh herbisida glifosat. Menurut Soesanto (2004) menyatakan bahwa berat basah tanaman merupakan gambaran

dari fotosintesis selama tanaman melakukan proses pertumbuhan, 90% berat kering merupakan hasil dari proses fotosintesis tanaman. Meningkatnya perpanjangan akar akan mendorong berat basah dan kering akar meningkat, hal ini yang mengakibatkan pertumbuhan tanaman menjadi lebih baik sampai kepada hasil yang meningkat.

Tabel 6. Rerata berat basah dan berat kering tanaman jagung

Perlakuan	Rerata Berat Basah (gram) ($\bar{x} \pm SD$)	Rerata Berat Kering (gram) ($\bar{x} \pm SD$)
Herbisida+Isolat P8A	8,75±2,06 <i>b</i>	2,70±0,42 <i>b</i>
Herbisida+Isolat P8B	7,25±3,40 <i>ab</i>	2,31±0,76 <i>b</i>
Herbisida+Isolat P8C	5,00±2,16 <i>ab</i>	2,35±0,42 <i>b</i>
Herbisida+Isolat P8O	21,75±3,10 <i>c</i>	4,29±0,08 <i>c</i>
Herbisida+Isolat P8E	11,25±2,06 <i>b</i>	2,80±0,34 <i>b</i>
Herbisida+Isolat P8F	6,00±3,56 <i>ab</i>	2,33±0,50 <i>b</i>
Herbisida+Isolat P8J	10,50±6,24 <i>b</i>	2,73±0,97 <i>b</i>
Herbisida+Isolat P8K	10,00±4,90 <i>b</i>	2,83±0,39 <i>b</i>
Herbisida+Isolat P8P	9,25±2,87 <i>b</i>	2,64±0,48 <i>b</i>
Herbisida+Isolat P9G	10,75±7,14 <i>b</i>	2,62±0,51 <i>b</i>
Herbisida	3,25±2,50 <i>a</i>	0,41±0,33 <i>a</i>
Aquades	24,50±3,32 <i>c</i>	4,78±0,10 <i>c</i>

Keterangan : Bilangan yang disertai huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji Duncan pada taraf kesalahan 5%,

Salah satu isolat bakteri yang menunjukkan hasil uji lanjut yang berbeda nyata baik pada berat basah atau berat kering yaitu genus *Pseudomonas* sp. Genus *Pseudomonas* sp. mampu menghasilkan senyawa IAA yang tinggi. Senyawa IAA berperan dalam pemanjangan sel. Pemanjangan sel ini terutama terjadi pada arah pembesaran sel dan meningkatkannya bobot basah. Peningkatan bobot basah terutama disebabkan oleh meningkatnya pengambilan air oleh sel tersebut. IAA dapat menaikkan permeabilitas sel terhadap air, menyebabkan berkurangnya tekanan dinding sel, meningkatkan sintesis protein dan pengembangan vakuola pada tanaman. Hal ini dapat menyebabkan tempat cadangan makanan menjadi membesar sehingga hasil dari proses fotosintesis dapat disimpan lebih banyak (Artawijayati *et al.*, 2005).

4.6 Pembahasan Umum

Hasil penelitian menunjukkan bahwa bakteri dari serasah tanaman pinus di UB Forest dapat digunakan untuk bioremediator pada lahan jagung yang tercemar herbisida glifosat. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah dengan cara *bioassay*. *Bioassay* adalah suatu metode mengukur tanggap suatu organisme hidup untuk menentukan keberadaan atau konsentrasi bahan kimia pada suatu sampel (DeBarreda *et al.*, 1993). Menurut Sriyani (2004) menyatakan bahwa *bioassay* dapat digunakan sebagai salah satu metode deteksi herbisida paraquat dan glifosat dalam tanah dan air.

Pada penelitian ini, tanaman jagung digunakan sebagai tanaman indikator dengan variabel yang diamati selama 15 hst. Menurut penelitian Sriyani dan Salam (2005) bahwa dalam melakukan teknik *bioassay* dilakukan dengan mengukur pertumbuhan tanaman indikator dalam beberapa perlakuan yang diambil pada interval waktu 20 hst. Indikator pertumbuhan tanaman yang diamati yaitu tinggi tanaman, panjang akar dan berat kering.

Hasil dari keseluruhan variabel pertumbuhan yang diamati, perlakuan dengan menggunakan isolat bakteri P8O menunjukkan hasil yang berbeda nyata dibandingkan dengan perlakuan menggunakan isolat bakteri lainnya dan kontrol herbisida glifosat. Isolat P8O yang telah diidentifikasi yakni termasuk dalam genus *Pseudomonas* sp. Menurut Khalimi dan Wiryana (2009) menyatakan bahwa *Pseudomonas fluorescent* secara nyata mampu meningkatkan tinggi tanaman maksimum, jumlah cabang maksimum, jumlah daun maksimum, bobot basah dan kering akar, dan bobot kering biji tanaman kedelai. Selain itu gabungan antara *P. fluorescent* dan *Trichoderma harzianum* dapat meningkatkan bobot kering akar tanaman cabai sebesar 13,4% (Maqqon *et al.*, 2006).

Siderofor dapat digunakan dalam pengendalian penyakit tumbuhan dengan memanfaatkan peranannya untuk menyerap besi dari lingkungan dan menyediakan mineral yang penting bagi sel mikroba (Neilands, 1995). Kemampuan bakteri penghasil siderofor dalam mengikat Fe^{3+} merupakan pesaing terhadap mikroorganisme lain. Mekanisme kerja siderofor terjadi melalui perkembangan yang cepat dari bakteri yang mengolonisasi akar tanaman dan memindahkan besi di daerah permukaan serta terciptanya kondisi yang sesuai

untuk pertumbuhan akar dan tidak sesuai untuk pertumbuhan mikroba *rhizoplant* (Budzikiewicz 2001). Bakteri penghasil siderofor juga dapat menginduksi ketahanan tanaman. Mekanisme ketahanan tanaman terjadi karena adanya perbaikan lingkungan tumbuh dari adanya interaksi mikroba dengan tanaman (Dey *et al.* 2004).

Beberapa bakteri penghasil siderofor yang telah digunakan dalam bidang pertanian diantaranya *P. aeruginosa*, *P. flourescens*, , *P. putida* dan *Bacillus* sp. Bakteri dari genus *Pseudomonas* pada strain yang berbeda memiliki kemampuan untuk menghasilkan siderofor dalam jumlah yang berbeda juga. Siderofor ini diketahui efektif menekan pertumbuhan penyakit *Fusarium oxysporum*. Hal ini karena ion Fe^{3+} yang dibutuhkan *F. oxysporum* untuk berkecambah tidak tersedia akibat diikat oleh *P. flourescens* yang berperan sebagai bakteri siderofor (Meyer, 2000).

Penggunaan herbisida dalam pengendalian gulma pada lahan pertanian banyak mengandung Phosphat, Hg, Pb, Fe dan Cd, sebagai logam berat yang biasanya dapat ditemukan pada herbisida berbahan aktif paraquat dan glifosat. Logam berat dalam dapat membahayakan kehidupan karena afinitasnya yang tinggi dalam sel, hal ini akan menyebabkan inaktivasi enzim dan berbagai gangguan fisiologi sel tanaman. Bakteri siderofor dapat membentuk suatu kompleks senyawa dengan logam berat tersebut. Umumnya pelekatan logam berat oleh bakteri untuk mempertahankan diri terhadap toksisitas logam berat, salah satu contohnya yakni bakteri *Pseudomonas fluorescent* yang mengalami transport di membran selnya, sehingga penolakan atau pengurangan logam yang masuk ke dalam sitoplasma. Logam berat yang tidak dapat melewati membran sel akan terakumulasi dan diendapkan atau dijerap di permukaan. Hal ini menyebabkan kandungan ion Fe^{3+} dapat tersedia bagi tanaman (Gadd, 2000).

V. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

1. Hasil eksplorasi bakteri dari serasah tanaman pinus di UB *Forest* terdapat 10 isolat bakteri yang berpotensi sebagai agens bioremediator pada herbisida berbahan aktif glifosat.
2. Hasil seleksi dan identifikasi bakteri dari serasah tanaman pinus di UB *Forest* diketahui bahwa isolat P8A, P8B dan P8E yaitu *Pantoea* sp., isolat P8C, P8E, P8F, P8K, P9G yaitu *Erwinia* sp. dan isolat P8O yaitu *Pseudomonas* sp.
3. Hasil pengujian secara *bioessay* di lapang dari kesepuluh isolat bakteri dari serasah tanaman pinus di UB *Forest* menunjukkan bahwa perlakuan dengan menggunakan isolat P8O berbeda nyata dengan isolat bakteri lainnya dan kontrol herbisida pada semua variabel pertumbuhan tanaman yaitu tinggi tanaman, panjang akar, berat basah, dan berat kering.

5.2 Saran

Saran dari penelitian ini adalah perlu dilakukan pengujian identifikasi bakteri sampai DNA pada bakteri yang telah terseleksi untuk mengetahui tingkat spesies dan dilakukan uji perhitungan degradasi residu pestisida terhadap bahan aktif yang telah didegradasi oleh bakteri.

DAFTAR PUSTAKA

- Aini, L. Q. 2012. Surveilans dan Deteksi Patogen oleh Tanaman. Available at <http://elkiaini.lecture.ub.ac.id/>.
- Akpor, O. B., Okoh, A. I., and Babalola, G. O. 2006. Culturable Mikrobial Population Dynamics During Decomposition of Theorome cacao Leaf Litters in a Tropical Soil Setting. *Journal of Biological Sciences* 6(4): 768-774.
- Aliyanta, B., Sumarlin, O. L., dan Mujab, A. S. 2011. Penggunaan Biokompos dalam Bioremediasi Lahan Tercemar Limbah Minyak Bumi. *Valensi*. 2(3).
- Arimarsetiowati, Rina, I., dan Ardiyani, F. 2012. Pengaruh Penambahan Auksin terhadap Pertunasan dan Perakaran Kopi Arabika Perbanyakan Somatik Embriogenesis. *Pelita Perkebunan*. 28(2): 82-90.
- Artawijaya, Solichatun, dan Sugiyarto. 2005. Pengaruh Asam Indol Asetat Terhadap Pertumbuhan, Jumlah dan Diameter Sel Sekretori Rimpang Tanaman Kunyit. Surakarta. Biologi FMIPA UNS Press.
- Banuwa, I. S. 2013. Erosi. Jakarta. Kencana Prenada Media Group.
- BUA UB. 2017. *UB Forest*. Badan Usaha Akademik UB. Available at <http://bua.ub.ac.id/ubForest/>.
- Budzikiewicz, H. 2001. Siderophore-antibiotic conjugates used as Trojan horses against *Pseudomonas aeruginosa*. *Current Topics in Medicinal Chemistry* 1: 73-92.
- Cookson, J. T. 1995. *Bioremediation Engineering : Design and Application*. McGraw-Hill, Inc. Toronto.
- Curran. W.S. 1998. Persistence of herbicide in soil. Available at <http://www.cas.psu.edu>. Herbicide. Diakses 18 September 2018.
- DeBarreda, D. G., Lorenzo, E., Carboneel, E. A., Caces, and Munoz, N. 1993. Use of Tomato Seedlings to Detect Bensulfuron and Quainclorac Residues in Water. *Weed Technology*. 7(2): 376-381.
- Dewi, M. 2017. Interaksi Fungsi Ektomikoriza dan Bakteri Rizosfer dengan Tanaman Inang Pinus (*Pinus merkusii* Jungh. Et de Vriese). Bogor. Program Studi Doktor Biologi. ITB.

- Dey, R., Pal, K. K., Bhatt, D. M., and Chauhan, S. M., 2004. Growth promotion and yield enhancement of peanut (*Arachis hypogaea* L.) by application of plant growth-promoting rhizobacteria. *Microbiological Research* 159: 371-389.
- Djojoseumarto, P. 2006. Jakarta. Pestisida dan Aplikasinya. Agromedia.
- Emalinda, O., Ari, P. W., dan Agustin. 2003. Pengaruh Herbisida Glifosat Terhadap Pertumbuhan dan Keragaman Mikroorganisme dalam Tanah serta Pertumbuhan Tanaman Kedelai (*glycyne max* (L.) Merr.) pada Ultisol. *Proceeding Stigma Volume XI No.4*. Oktober-Desember 2003.
- Fadhly, A. F. dan Tabri, F. 2007. Pengendalian Gulma Pada Pertanaman Jagung. Balai Penelitian Tanaman Serealia. Maros. <http://balitsereal.litbang.deptan.go.id/bjagung/satulima.pdf>. Diakses pada tanggal 26 Februari 2018.
- Fahy, P dan Persley, G. P. 1983. *Plant Bacterial Disease: A Diagnostic Guide*. Sydney. Academic Press. p 393.
- Firmansyah, R. 2007. *Mudah dan Aktif Belajar Biologi*. Bandung. PT. Setia Purna Inves.
- Gadd, G. M. 2000. Bioremedial potential of microbial mechanisms of metal mobilization and immobilization. *Curr Opin Biotechnol*. 11:271-279.
- Gossalam. 1999. Kemampuan Degradasi Hidrokarbon Minyak Bumi Oleh Isolat Bakteri Dari Lingkungan Hutan Magrove. Bandung. Thesis Magister ITB.
- Hager, A. G dan Sprague, C. L. 2002. Factors effecting herbicide persistence. *Illinois Agricultural Pest Management Handbook*. University of Illinois.
- Hardjowigeno, S. 2010. *Ilmu Tanah*. Jakarta. Akademika Pressindo.
- Hidayat, Rahmat, dan Alhadi, F. 2012. Identifikasi *Streptococcus equi* dari Kuda yang diduga menderita strangles. Jakarta. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia (JIPI)*. 17(3): 199-203
- Holt, J., Krieg, G. N. R., Sneath, J.T., Staley, and Williams S.T. 1994. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology Ninth Edition*. United States of America. Williams and Wilkins Maryland.

- Khalimi, K. dan Wirya, G. 2009. Pemanfaatan Plant Growth Promoting Rhizobacteria untuk Biostimulan dan Bioprotektan. <http://e-journal.unud.ac.id>. Diakses pada 12 Juli 2018.
- Krieg, N. R., and Holt, J. G. 1984. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, 1st Ed. Vol. 1. Baltimore. The Williams and Wilkins Co.
- Lumbanraja, P. 2014. Mikroorganisme dalam Bioremediasi. Medan. Program S3 Sekolah Pascasarjana. Universitas Sumatera Utara Press.
- Maqqon, M., Kuntantinah dan Soesanto, L. 2006. Penekanan hayati Penyakit Layu Fusarium pada Tanaman Cabai Merah. Agrosains. 8(1):50-56.
- Meyer, J. M., 2000. Pyoverdins: pigments, siderophores and potential taxonomic markers of fluorescent *Pseudomonas* species. Arch. Microbiol. [abstrak] 174(3): 135-142.
- Moomaw, R. S., Klein, R. N., Martin, A. R., Roeth, F. W., Shea, P. J., Wicks G. A., and Wilson R. G. 1996. Factors that affect soil-applied herbicides. Pesticides. General (eletronic version), file G1081. Diakses pada 26 Februari 2018.
- Moore, E. R. B, Tindall, B. J., Santos, V. A. P. M. D., Pieper, D. H., Ramos, J., and Palleroni, N. J. 2006. Nonmedical *Pseudomonas*. Prokaryotes 6 646–703.
- Neilands, J. B. 1995. Siderophores: structure and fungtional of microbial iron transport compounds. The Journal of Biologycal Chemistry 270(45): 26723-26726.
- Pariona, A. 2017. Top Pesticide Using Countries. <https://www.worldatlas.com/articles/top-pesticide-consuming-countries-of-the-world.html>. Diakses pada tanggal 26 Februari 2018.
- Pelezae, A., and Michael, J. 2005. Dasar-dasar Mikrobiologi. Jakarta. UI Press.
- Prayudyaningsih, R., Nurstamsi, dan Sari, R. 2015. Mikroorganisme Tanah Bermanfaat pada Rhizosfer Tanaman Umbi di Bawah Tegakan Hutan Rakyat Sulawesi Selatan. Prosiding Seminar Nasional Masyarakat Biodiversitas Indonesia. p 954-959.
- Pusat Penelitian dan Pengembangan Tanaman Pangan Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian Kementerian Pertanian. 2012. Jakarta. Badan Penelitian dan Pengembangan Tanaman Pertanian Kementerian Pertanian.

- Rao, S. 1994. Mikroorganisme Tanah dan Pertumbuhan Tanaman Edisi Kedua. Jakarta. Universitas Indonesia.
- Rao, V. S. 2000. Principle Of Weed Science 2nd Eds. Science Publisher, Inc. USA.
- Riadi, M. 2011. Herbisida Dan Aplikasinya. Jurusan Budidaya Pertanian. Fakultas Pertanian Universitas Hasanuddin.
- Sakalena, F. 2009. Efektivitas Herbisida Glifosat Terhadap Alang-Alang (*Imperata cylindrica*. L). Jurnal Agronobis. 1.(2): 12–18.
- Santoso, R. H. 2008. Penelitian Pengendalian Pencemaran Air Limbah Industri Organik. Prosiding Kolokium Hasil Penelitian dan Pengembangan Sumberdaya Air Menyongsong Perubahan Iklim Global. Bandung 23-24 Juli 2008.
- Schaad, N., Jones, J. B, and Chun, W. 2001. Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria. 3rd Edition. Paul Minnessota. APS Press., St.
- Shimao, M. 2001. Biodegradation of plastics. Current Opinion Biotechnology 12 242-247.
- Shofiana, A. 2013. Pengaruh Pemberian berbagai Konsentrasi Hormon IBA (Indole Butyric Acid) Batang Tanaman Buah Naga. Lentera Bio. 2(1): 225-397.
- Soesanto, L. 2004. Kemampuan *Pseudomonas fluorescent* P60 sebagai agensia pengendali hayati penyakit busuk batang kacang tanah in vivo. Eugenia 10(1):8-17.
- Soesanto, L., Rokhlani, dan Prihatiningsih, N. 2008. Penekanan beberapa mikroorganisme antagonis terhadap layu *Fusarium gladiol*. Agrivita 30(1):75-83.
- Sriyani, N. 2004. Penggunaan Teknik Bioassay untuk Mendeteksi herbisida 2,4-D dalam tanah dan air. J. Agrotop. 9(1): 8-12.
- Sriyani, N., dan Salam, A. K. 2005. Penggunaan Bioassay untuk Mendeteksi Herbisida Pratumtuh Diuron dan Ametrin dalam Tanah dan Air. J. Stigma 13(1): 1-6.
- Steven, B., and Marc, K. 1996. In situ Bioremediation Of Petroleum Aromatic Hydrocarbon. Ground Water Polution. Down loading, available at <http://>

www.cee.vt.edu/program_areas/enviromental/teach/gwprimer/group1/ind/ex/html.

- Sulasti, W., Setyowati, N., dan Nurjanah, U. 2009. Pengaruh jenis dan waktu pengendalian gulma terhadap pertumbuhan dan hasil kedelai. Bengkulu. Tesis. Fakultas Pertanian Univ.
- Supriadi. 2006. Analisis Risiko Agens Hayati untuk Pengendalian Patogen pada Tanaman. Jurnal Litbang Pertanian. Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik. 22(3).
- Travaglia, C. O., Masciarelli, J., Fortuna, G., Marchetti, P., Cardozo, M., Lucero, E., Zorza, V., and Reinoso, H. 2015. Towards sustainable Maize and Pine Production: Glyphosate Detoxification by *Azospirillum* sp. and *Pseudomonas* sp. Crop Protection 77 (1):102-109.
- Wardoyo, S. 2001. Pengaruh Residu Herbisida Glifosat Terhadap Ciri Tanah Pertumbuhan Tanaman. J. II. Pert. Indon. 10(1):1-9.
- Weiping, L. 1995. Contribution of organic matter to metolachlor adsorbtion on some soil. Journal of Environmental Science Vol. 7 No 1. Pp 121-125.
- Wijaya, A. S., Prasetyawan, S., dan Roosdiana, A. 2014 Karakterisasi Enzim Organofosfat Hidrolase dari *Pseudomonas putida* pada Substrat Diazinon dan Malathon.
- Wijiyono. 2009. Keanekaragaman Bakteri Serasah Daun *Avicennia marina* yang Mengalami Dekomposisi pada Berbagai Tingkat Salinitas di Teluk Tapian Nauli. Medan.

LAMPIRAN



Tabel Lampiran 1. Analisis ragam tinggi tanaman jagung pada pengamatan 3 hst

SK	JK	db	KT	F hitung	F tabel
Blocks	0,012	3	0,004	0,034	
Perlakuan	12,673	11	1,152	9,931	2,093*
Galat	3,841	33	0,116		
Total	16,526	47	0,352		

Keterangan; *berbeda nyata, ** berbeda sangat nyata, tanpa * berarti tidak nyata

Tabel Lampiran 2. Analisis ragam tinggi tanaman jagung pada pengamatan 6 hst

SK	JK	db	KT	F hitung	F tabel
Blocks	0,236	3	0,079	0,467	
Perlakuan	44,357	11	4,032	23,857	2,093*
Galat	5,582	33	0,169		
Total	50,175	47	1,068		

Keterangan; *berbeda nyata, ** berbeda sangat nyata, tanpa * berarti tidak nyata

Tabel Lampiran 3. Analisis ragam tinggi tanaman jagung pada pengamatan 9 hst

SK	JK	db	KT	F hitung	F tabel
Blocks	0,595	3	0,198	0,574	
Perlakuan	44,610	11	4,055	11,753	2,093*
Galat	11,399	33	0,345		
Total	56,604	47	1,204		

Keterangan; *berbeda nyata, ** berbeda sangat nyata, tanpa * berarti tidak nyata

Tabel Lampiran 4. Analisis ragam tinggi tanaman jagung pada pengamatan 12 hst

SK	JK	db	KT	F hitung	F tabel
Blocks	0,491	3	0,164	0,338	
Perlakuan	56,758	11	5,160	10,661	2,093*
Galat	15,960	33	0,484		
Total	73,210	47	1,558		

Keterangan; *berbeda nyata, ** berbeda sangat nyata, tanpa * berarti tidak nyata

Tabel Lampiran 5. Analisis ragam tinggi tanaman jagung pada pengamatan 15 hst

SK	JK	db	KT	F hitung	F tabel
Blocks	1,318	3	0,439	0,452	
Perlakuan	49,414	11	4,492	4,621	2,093*
Galat	32,078	33	0,972		
Total	82,810	47	1,762		

Keterangan; *berbeda nyata, ** berbeda sangat nyata, tanpa * berarti tidak nyata

Tabel Lampiran 6. Analisis ragam panjang akar tanaman jagung

SK	JK	db	KT	F hitung	F tabel
Blocks	0,904	3	0,301	0,434	
Perlakuan	29,808	11	2,710	3,904	2,093*
Galat	22,890	33	0,694		
Total	53,602	47	1,140		

Keterangan; *berbeda nyata, ** berbeda sangat nyata, tanpa * berarti tidak nyata

Tabel Lampiran 7. Analisis ragam berat basah tanaman jagung

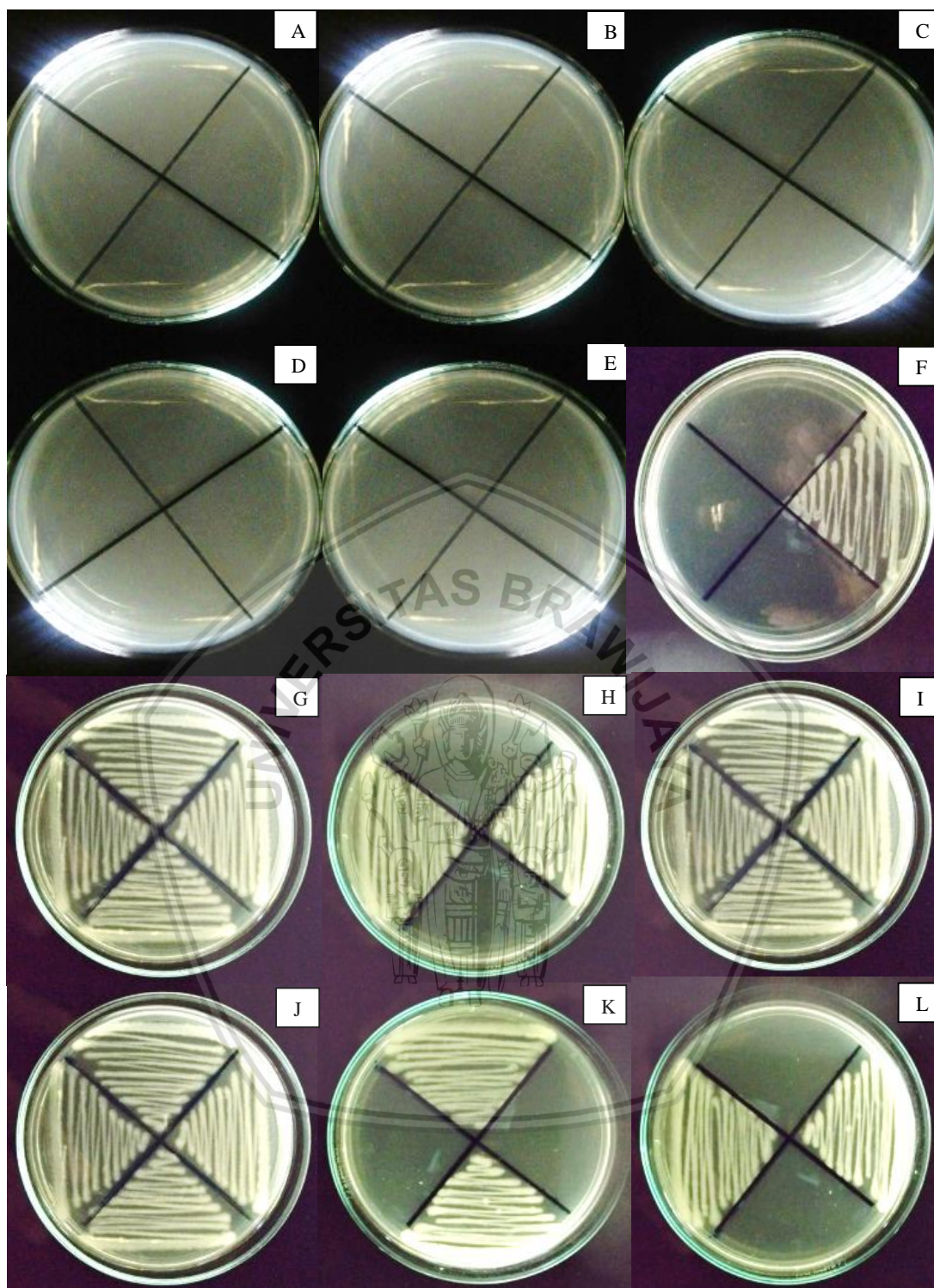
SK	JK	db	KT	F hitung	F tabel
Blocks	0,200	3	0,067	0,146	
Perlakuan	36,184	11	3,289	7,215	2,093*
Galat	15,046	33	0,456		
Total	51,431	47	1,094		

Keterangan; *berbeda nyata, ** berbeda sangat nyata, tanpa * berarti tidak nyata

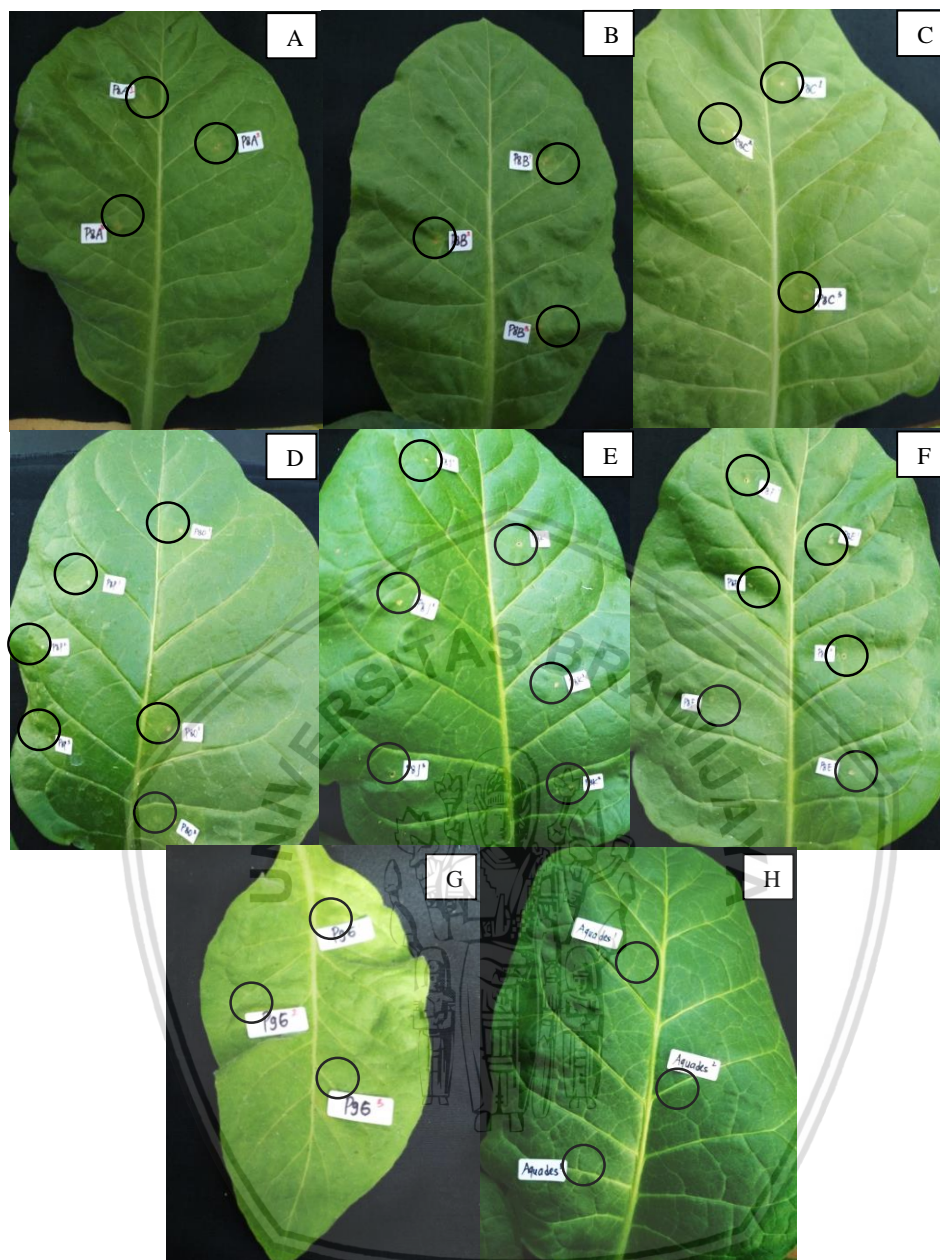
Tabel Lampiran 8. Analisis ragam berat kering tanaman jagung

SK	JK	db	KT	F hitung	F tabel
Blocks	0,061	3	0,020	0,914	
Perlakuan	4,666	11	0,424	19,089	2,093*
Galat	0,733	33	0,022		
Total	5,461	47	0,116		

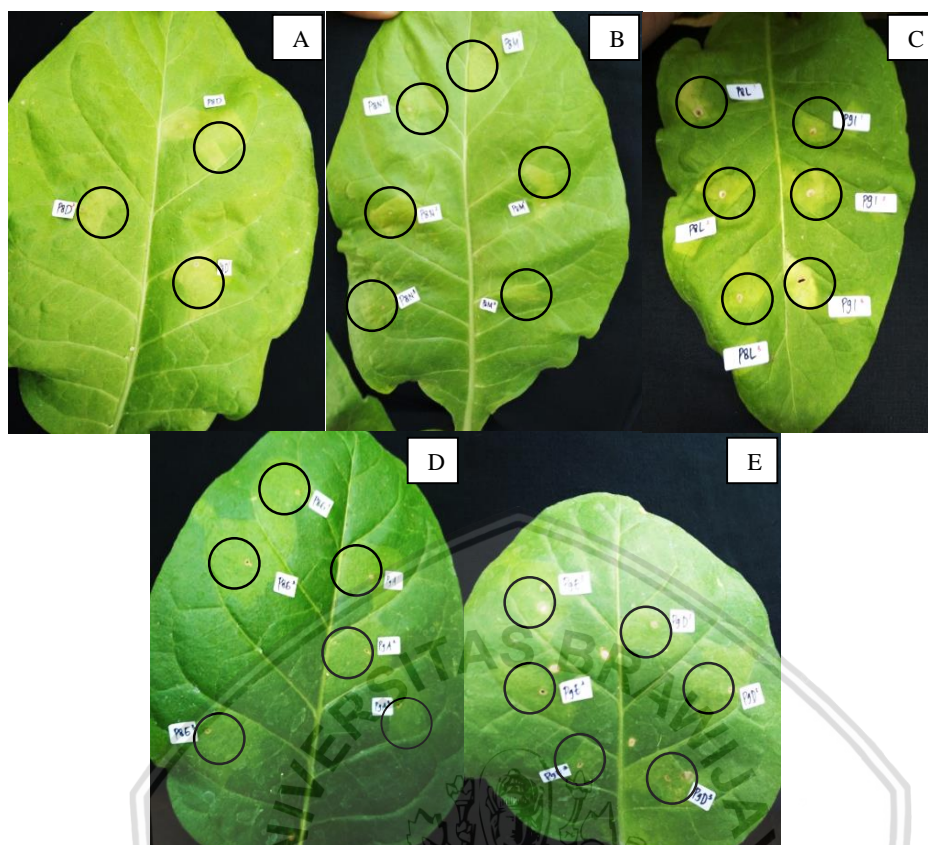
Keterangan; *berbeda nyata, ** berbeda sanga nyata, tanpa * berarti tidak nyata



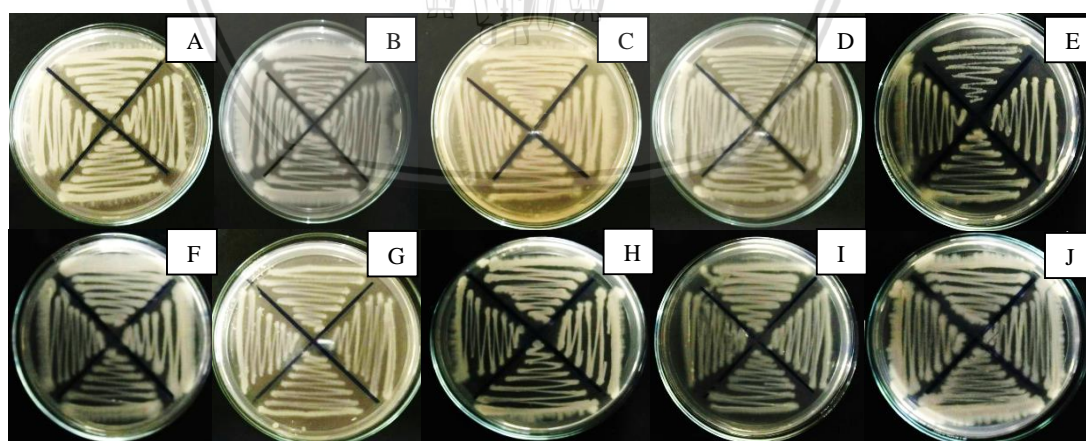
Gambar Lampiran 1. Uji kemampuan hidup isolat bakteri pada media mengandung herbisida glifosat 48 jam setelah *streak*. A. Isolat (P5A, P5B, P5C, 05D), B. Isolat (P5E, P5F, P5G, P6A), C. Isolat (P6B, P6C, P6D, P6E), D. Isolat (P6F, P6G, P6H, P6I), E. Isolat (P6J, P6K, P6L, P6M), F. Isolat (P6N, P6O, P6P, P8A), G. Isolat (P8B, P8C, P8D, P8E), H. Isolat (P8F, P8G, P8H, P8I), I. Isolat (P8J, P8K, P8L, P8M), J. Isolat (P8N, P8O, P8P, P9A), K. Isolat (P9B, P9C, P9D, P9E), dan L. Isolat (P9F, P9G, P9H, P9I)



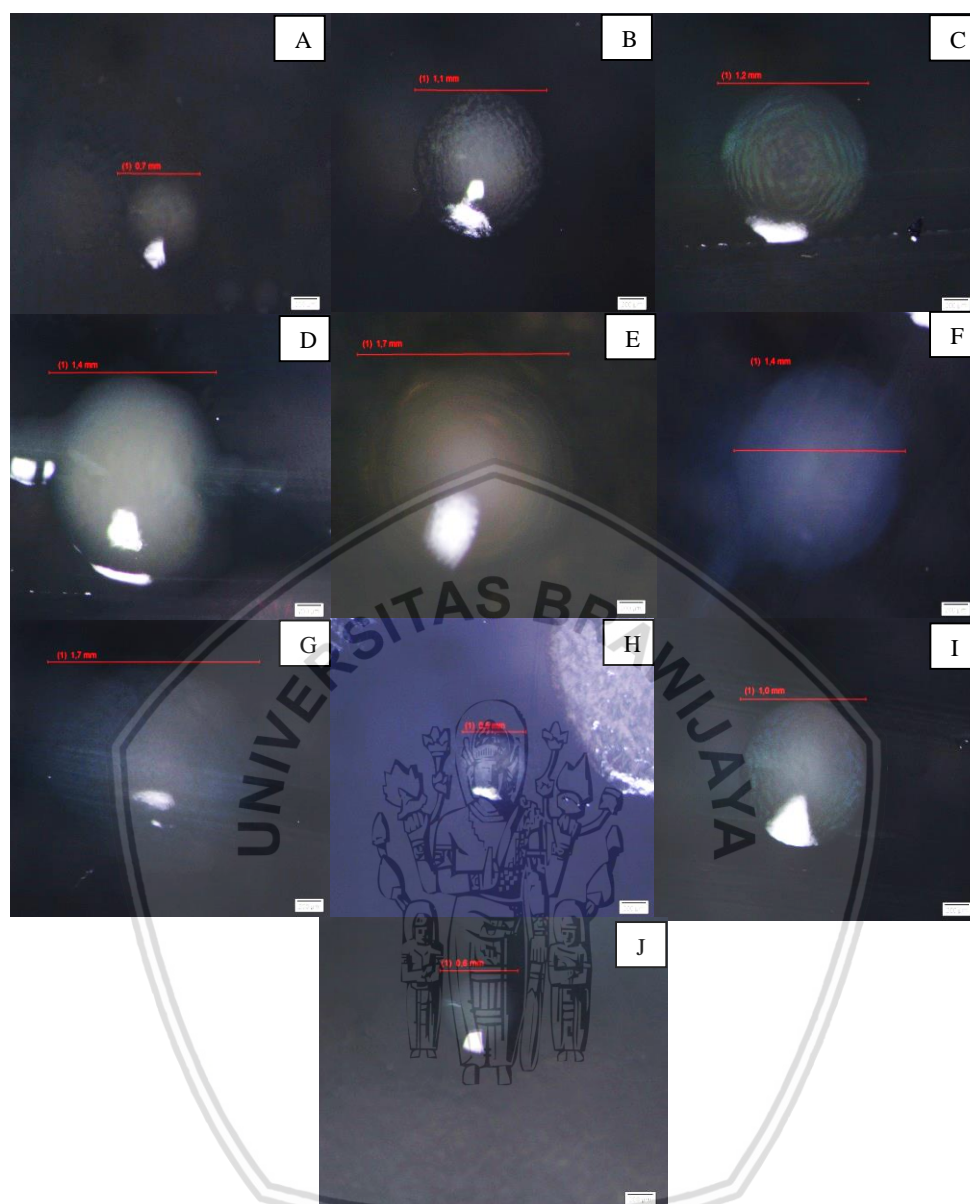
Gambar Lampiran 2. Hasil uji hipersensitif. A. Isolat P8A, B. Isolat P8B, C. Isolat P8C, D. Isolat P8P dan Isolat P8O, E. Isolat P8J dan Isolat P8K, F. Isolat P8F dan Isolat P8E, G. Isolat P9G, H. Kontrol. Lingkaran hitam pada daun tembakau merupakan tanda infiltrasi suspensi bakteri yang tidak menunjukkan gejala nekrosis pada 2 HST



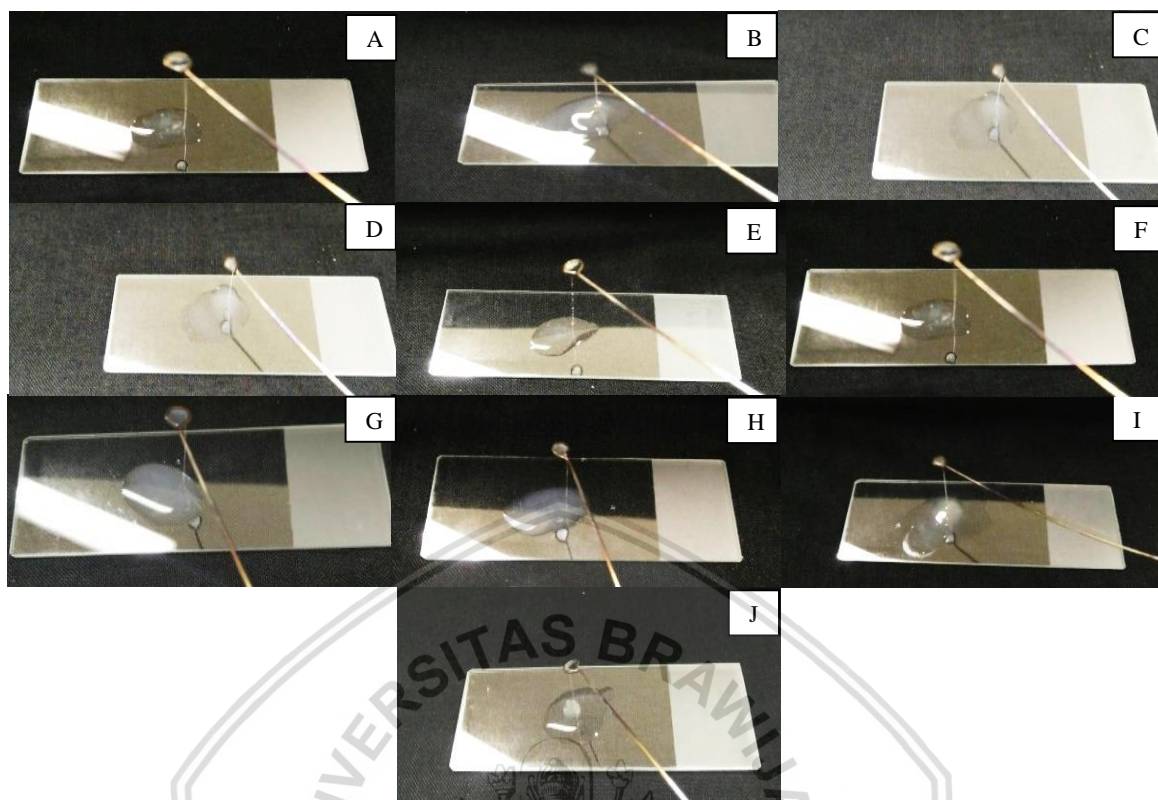
Gambar Lampiran 3. Hasil uji hipersensitif. A. Isolat P8D, B. Isolat M dan Isolat N, C. Isolat P8L dan Isolat P9I, D. Isolat P8G dan Isolat P9A, serta E. Isolat P9D dan Isolat P9E. Lingkaran hitam pada daun tembakau merupakan tanda infiltrasi suspensi bakteri yang menunjukkan gejala nekrosis pada 2 HST



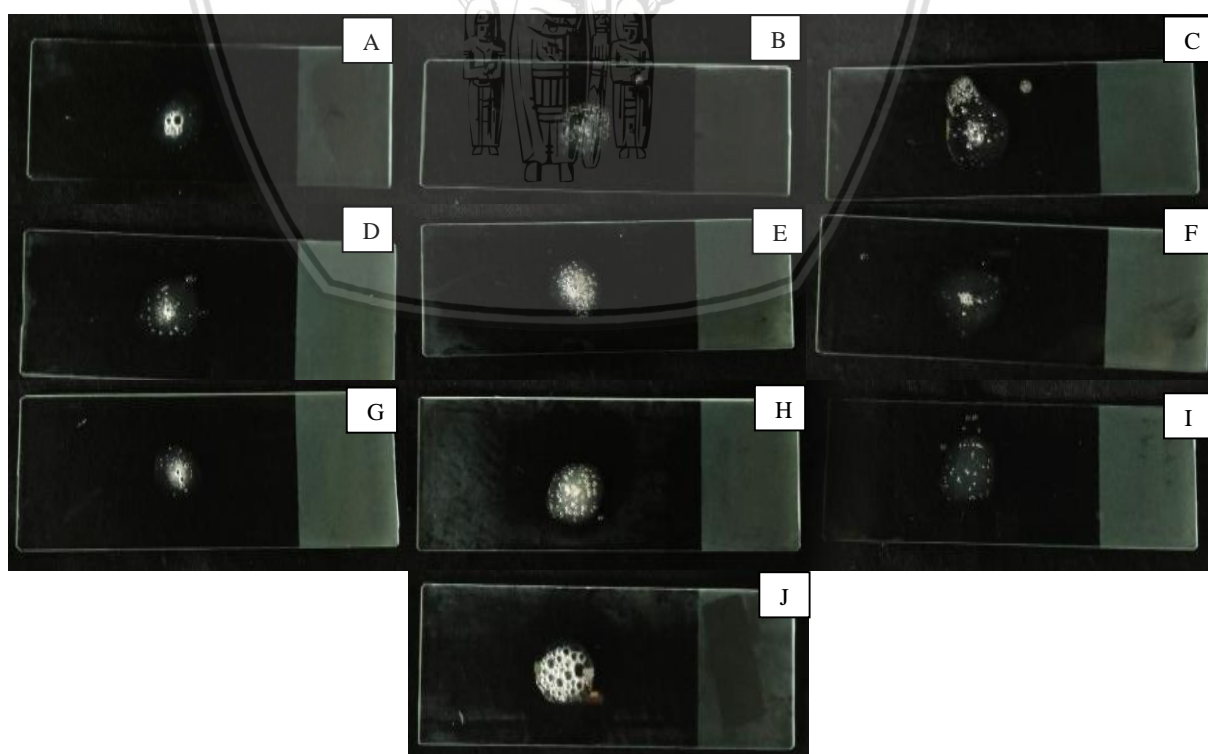
Gambar Lampiran 4. Bakteri yang terseleksi pada medium NA. A. Isolat P8A, B. Isolat P8B, C. Isolat P8C, D. Isolat P8O, E. Isolat P8E, F. Isolat P8F, G. Isolat P8J, H. Isolat P8K, I. Isolat P8P, J. Isolat P9G



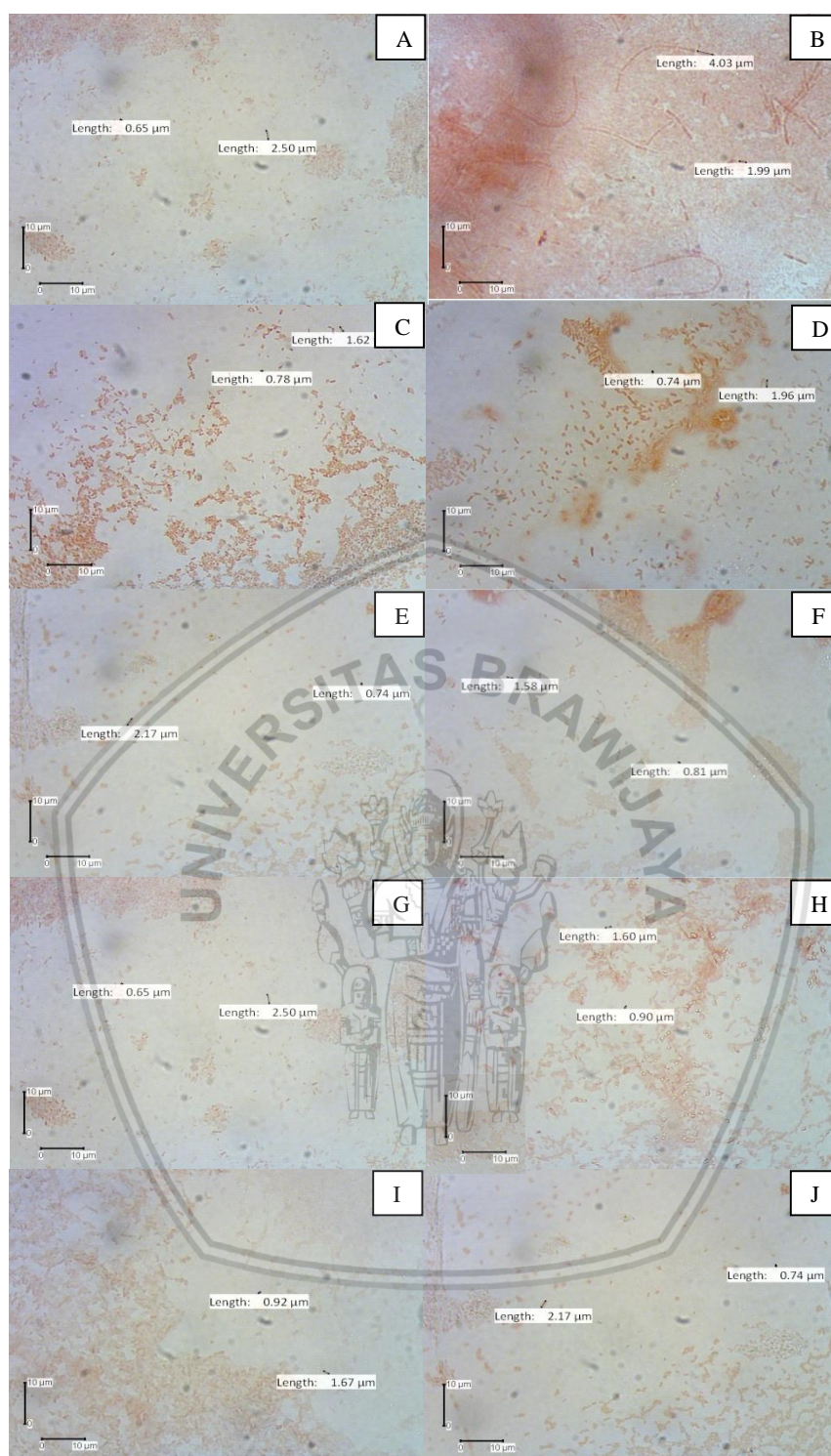
Gambar Lampiran 5. Bentuk koloni bakteri, A. Isolat P8A, B.Isolat P8B, C. Isolat P8C, D. Isolat P8O, E. Isolat P8E, F. Isolat P8F, G. Isolat P8J, H. Isolat P8K, I. Isolat P8P, J. Isolat P9G



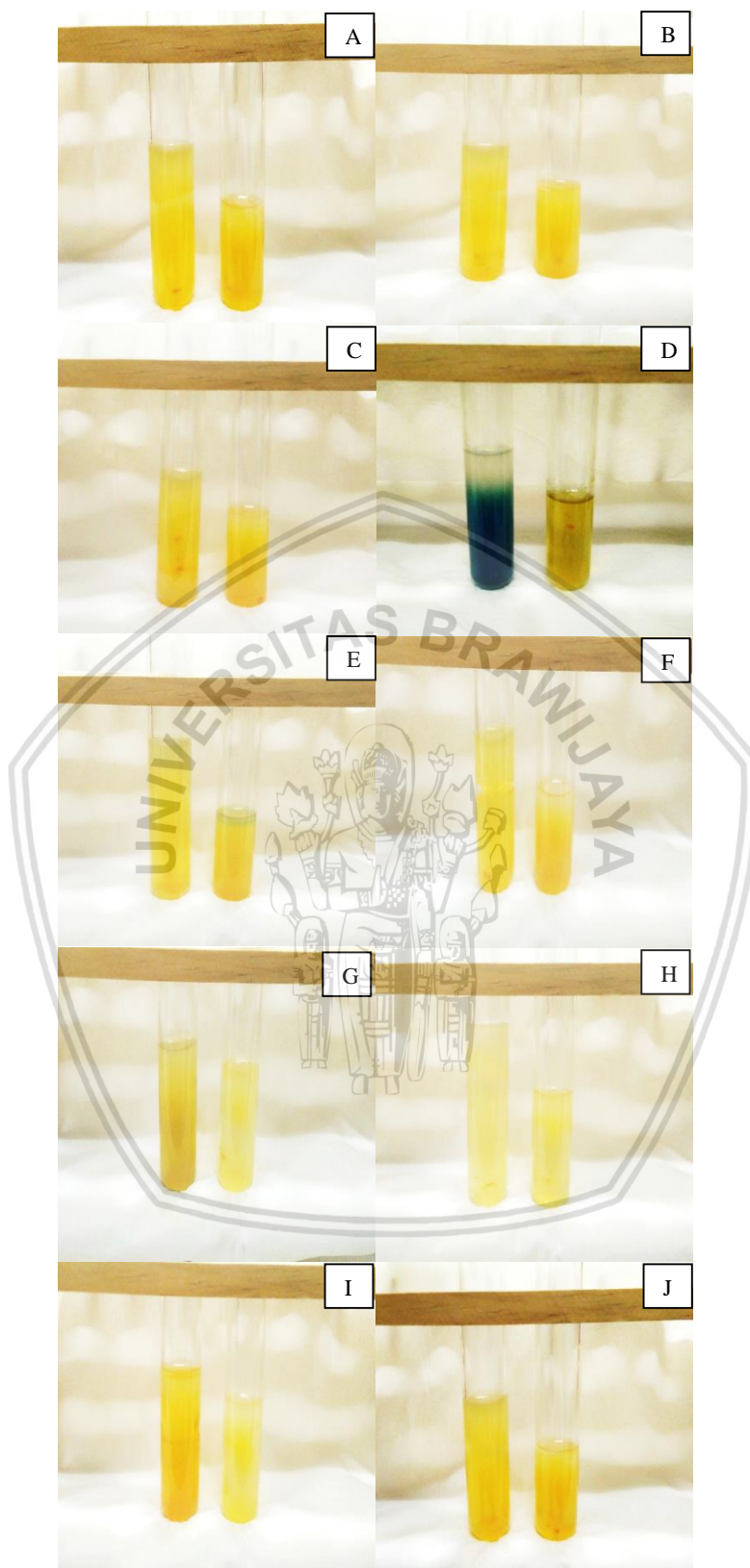
Gambar Lampiran 6. Hasil uji KOH 3%. A. Isolat P8A, B. Isolat P8B, C. Isolat P8C, D. Isolat P8O, E. Isolat P8E, F. Isolat P8F, G. Isolat P8J, H. Isolat P8K, I. Isolat P8P, J. Isolat P9G



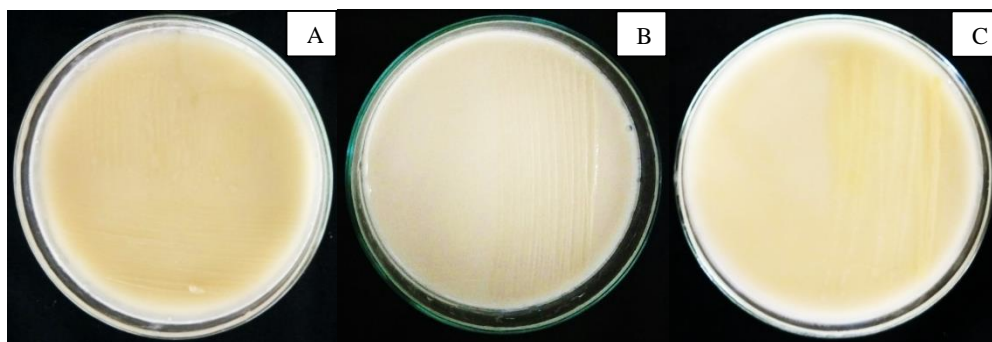
Gambar Lampiran 7. Hasil uji katalase. A. Isolat P8A, B. Isolat P8B, C. Isolat P8C, D. Isolat P8O, E. Isolat P8E, F. Isolat P8F, G. Isolat P8J, H. Isolat P8K, I. Isolat P8P, J. Isolat P9G



Gambar Lampiran 8. Hasil uji gram pada perbesaran 100x. A. Isolat P8A, B. Isolat P8B, C. Isolat P8C, D. Isolat P8O, E. Isolat P8E, F. Isolat P8F, G. Isolat P8J, H. Isolat P8K, I. Isolat P8P, J. Isolat P9G



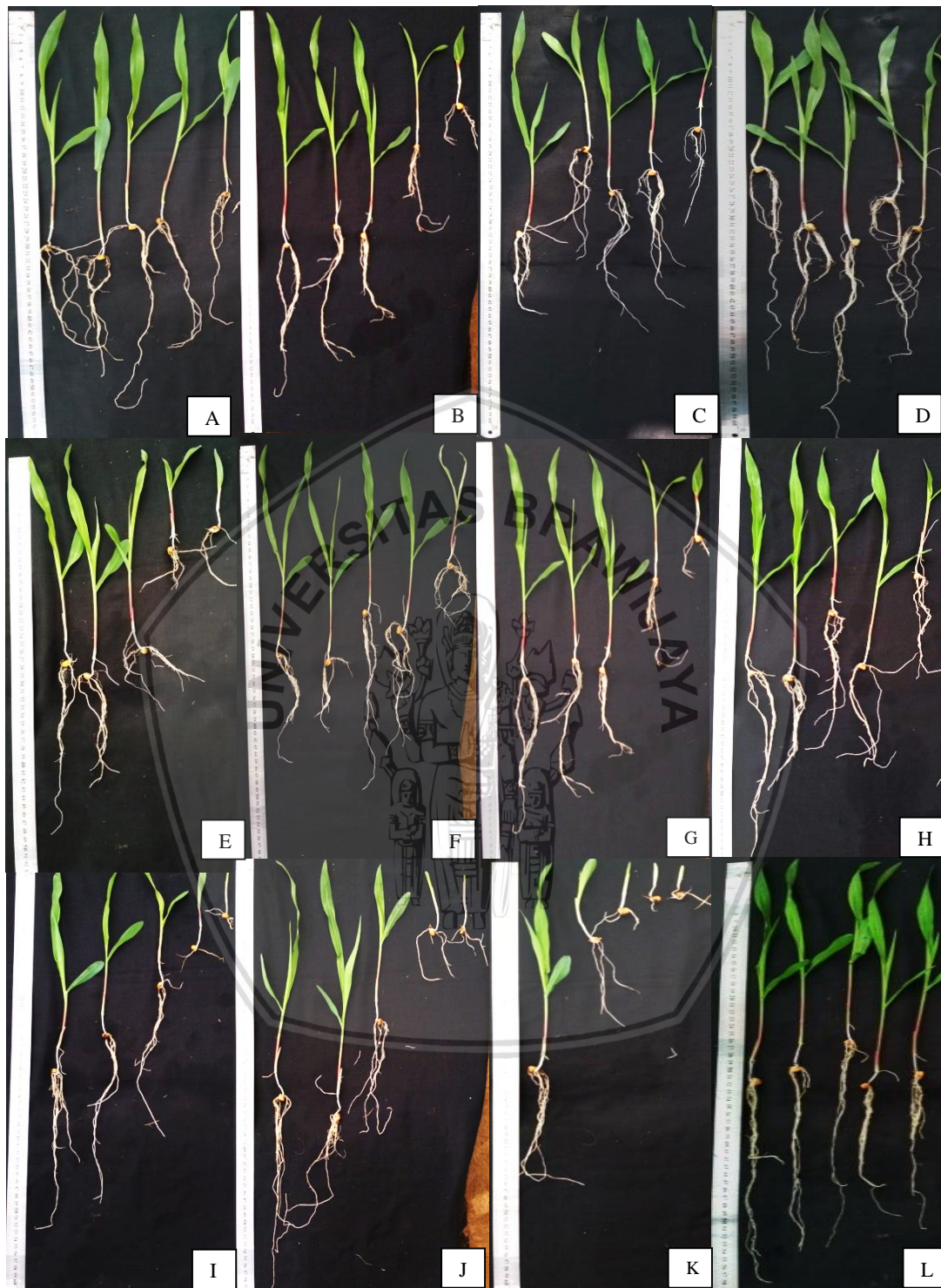
Gambar Lampiran 9. Hasil uji OF. A. Isolat P8A, B. Isolat P8B, C. Isolat P8C, D. Isolat P8O, E. Isolat P8E, F. Isolat P8F, G. Isolat P8J, H. Isolat P8K, I. Isolat P8P, J. Isolat P9G



Gambar Lampiran 10. Hasil uji YDC pada isolat bakteri yang memiliki koloni berwarna kuning. A. Isolat P8A, B. Isolat P8B, dan C. Isolat P8E



Gambar Lampiran 11. Hasil uji YDC pada isolat bakteri yang memiliki koloni berwarna putih. A. Isolat P8C, B. Isolat P8F, C. Isolat P8J, D. Isolat P8K, E. Isolat P8P, dan F. Isolat P9G



Gambar Lampiran 12. Tinggi tanaman jagung pada 15 hst. A. Isolat P8A, B. Isolat P8B, C. Isolat P8C, D. Isolat P8O, E. Isolat P8E, F. Isolat P8F, G. Isolat P8J, H. Isolat P8K I. Isolat P8P J. Isolat P9G. K. Herbisida. L. Aquades

Tabel Lampiran 9. Deskripsi tanaman jagung varietas BISI-18

Nama varietas	: BISI-18
Tanggal dilepas	: 12 Oktober 2004
Asal	: F1 silang tunggal antara galur murni FS46 sebagai induk betina dan galur murni FS17 sebagai induk jantan
Umur	: 50% keluar rambut Dataran rendah : + 57 hari Dataran tinggi : + 70 hari
Masak fisiologis	: Dataran rendah : + 100 hari Dataran tinggi : + 125 hari
Batang	: Besar, kokoh, tegap
Warna batang	: Hijau
Tinggi tanaman	: + 230 cm
Daun	: Medium dan tegak
Warna daun	: Hijau gelap
Keragaman tanaman	: Seragam
Perakaran	: Baik
Kerebahan	: Tahan rebah
Bentuk malai	: Kompak dan agak tegak
Warna sekam	: Ungu kehijauan
Warna anthera	: Ungu kemerahan
Warna rambut	: Ungu kemerahan
Tinggi tongkol	: + 115 cm
Kelobot	: Menutup tongkol cukup baik
Tipe biji	: Semi mutiara
Warna biji	: Oranye kekuningan
Jumlah baris/tongkol	: 14 - 16 baris
Bobot 1000 biji	: + 303 g
Rata-rata hasil	: 9,1 t/ha pipilan kering
Potensi hasil	: 12 t/ha pipilan kering
Ketahanan	: Tahan terhadap penyakit karat daun dan bercak daun
Daerah pengembangan	: Daerah yang sudah biasa menanam jagung hibrida pada musim kemarau dan hujan, terutama yang menghendaki varietas berumur genjah-sedang
Keterangan	: Baik ditanam di dataran rendah sampai ketinggian 1000 m dpl
Pemulia	: Nasib W.W., Putu Darsana, M.H. Wahyudi, dan Purwoko

Sumber : Pusat Penelitian dan Pengembangan Tanaman Pangan Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian Kementerian Pertanian. 2012.